

THESIS

MÜNCHEN

1967

ÜBER DIE GONADOTROPINAUSSCHIEDUNG
IM ZYKLUS UNTER
ÖSTROGEN-GESTAGEN-KOMBINATIONEN
VERSCHIEDENER DOSIERUNG UND NACH
ABSETZEN EINER ZYKLISCHEN
LANGZEITBEHANDLUNG MIT 4mg ANTA +
50 µg ÄTHINYLÖSTRADIOL

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF. 94304

Juliana Lichtner
München 1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. Frauenklinik und Hebammenschule der Universität München
Direktor: Professor Dr. W. Bickenbach

ÜBER DIE GONADOTROPINAUSSCHIEDUNG IM ZYKLUS
UNTER ÖSTROGEN-GESTAGEN-KOMBINATIONEN VER-
SCHIEDENER DOSIERUNG UND NACH ABSETZEN EINER
ZYKLISCHEN LANGZEITBEHANDLUNG MIT 4 mg ANTA
+ 50 ug ÄTHINYLÖSTRADIOL.

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
J u l i a n a L i c h t n e r
Deutsch-Litta

München 1967

Berichterstatter: Prof. Dr. R. Kaiser
Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Bickenbach
Dekan: Prof. Dr. M. Kiese
Tag der mündl. Prüfung: 18. 7. 1967

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

- I. DER FUNKTIONSKREIS
ZWISCHENHIRN - HYPOPHYSE - KEIMDRÜSEN
- II. DIE GONADOTROPEN HORMONE
DES HYPOPHYSENVORDERLAPPEN
- III. DIE BASALTEMPERATUR UND
AUSSCHIEDUNGEN DER HORMONE
IM OVULATORISCHEN
ZYKLUS
 - A. DIE BASALTEMPERATUR
 - B. GONADOTROPINE IM URIN
 - 1. Gesamtgonadotropine
 - 2. Follikelstimulierendes Hormon - FSH
 - luteinisierendes Hormon - LH
 - C. ÖSTROGENE IM URIN
 - D. PREGNANDIOL IM URIN
 - E. KORRELATION VON BASALTEMPERATUR UND MAXIMA
DER HORMONAUSSCHIEDUNGEN
- IV. HORMONAUSSCHIEDUNG IM
ZYKLUS UNTER EXOGENER
KEIMDRÜSENHORMONZUFUHR

V. METHODIK DER GONADOTROPINBESTIMMUNG

- A. GESAMTGONADOTROPINBESTIMMUNG MIT DEM MAUS - UTERUS - TEST (MUT)
- B. ANGEWANDTE METHODEN DER GONADOTROPINBESTIMMUNG (BIOLOGISCH)
 - 1. Extraktion des Gesamtgonadotropins aus dem Harn mit der Kaolin-Aceton-Methode nach Loraine und Brown
 - 2. Biologische Aktivitätsbestimmung mit dem Maus-Uterus-Gewichtstest nach Levin und Tyndale
- C. IMMUNOLOGISCHER NACHWEIS VON HCG - LH ÄQUIVALENTEN IM URIN

VI. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

- A. WIEDERFINDUNGSVERSUCH UND STATISTISCHE SICHERUNG DER ERGEBNISSE
- B. VERSUCHSANORDNUNG MIT ANAMNESTISCHEN DATEN DER PROBANDINNEN
- C. DIE GESAMTGONADOTROPINAUSSCHIEDUNG IM URIN IN DEN UNBEHANDELTEN ZYKLEN UND UNTER HORMONTHERAPIE
 - 1. Die unbehandelten Zyklen
 - 2. Die Gonadotropinausscheidung unter 1 mg ANTA und 50 γ Äthinylöstradiol vom 5. bis zum 24. Zyklustag

3. Die Gonadotropinausscheidung unter
50 μ Äthinylöstradiol vom 5. bis 19. und
50 μ Äthinylöstradiol + 2,5 mg ANTA vom
20 bis 24. Zyklustag
4. Die Gonadotropinausscheidung unter 2,5 mg
ANTA und 50 μ Äthinylöstradiol vom 5. bis
24. Zyklustag
5. Die Gonadotropinausscheidung unter 4 mg
ANTA und 50 μ Äthinylöstradiol vom 5. bis
24. Zyklustag

D. DIE GONADOTROPINAUSSCHIEDUNG IM HARN IN DEN
ZYKLEN NACH ABSETZEN EINER 1 1/2- UND 1-JÄH-
RIGEN ZYKLISCHEN EINNAHME VON 4 mg ANTA und
50 μ ÄTHINYLÖSTRADIOL (ANOVLAR) JEWEILS VOM
5. BIS 24. ZYKLUSTAG

VII. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

IX. TABELLEN UND ABBILDUNGEN

X. LITERATURVERZEICHNIS

E I N L E I T U N G

Zur Verhütung einer Schwangerschaft wird seit einigen Jahren die Methode der hormonalen Kontrazeption in zunehmendem Maße angewandt. Östrogen - Gestagen Gemische, die oral vom 5. bis 24. Zyklustag zugeführt werden, sollen die Ovulation unterdrücken.

Diese Hormongemische werden in der Literatur als "Ovulationshemmer" bezeichnet.

Als Östrogenanteil ist in ihnen Äthinylöstradiol oder sein Methylaether enthalten, die gestagenwirksame Komponente besteht aus einem der verschiedenen Derivate des Testosterons, denen eine starke antigonadotrope, eine virilisierende und eine am Endometrium sekretorische Wirkung gemeinsam ist. Diese Verbindungen sind oral stark wirksam, ihre Entdeckung hat den oralen Applikationsweg für die "Ovulationshemmer" ermöglicht. In entsprechender Dosierung sind diese Verbindungen zu praktisch 100 % kontrazeptiv wirksam.

Neben einer direkten Beeinflussung des Cervixschleims und Endometriums steht eine erhebliche Hemmung der Ovarialfunktion einschließlich der Steroidsynthese außer Frage. Die meisten Autoren nehmen eine Hemmung des Zwischenhirn-Hypophysenvorderlappen-Systems an, die ihrerseits zu einer Hemmung der Ovarialfunktion führt. Es wird auch eine direkte Hemmwirkung auf die Ovarien diskutiert.

Unabhängig vom Wirkungsmechanismus im Einzelnen bedeutet die Einnahme von "Ovulationshemmern" einen erheblichen Eingriff in den gesamten Hormonhaushalt.

In diesem Zusammenhang erscheinen 4 Fragen von Bedeutung:

1. Wie groß ist der Einfluß von "Ovulationshemmern" auf den Hormonhaushalt, insbesondere auf die Menge der täglich ausgeschiedenen Gonadotropine?
2. Ist der Einfluß dosisabhängig, insbesondere vom Gestagenanteil?
3. Wie wird der Hormonhaushalt durch die Zweiphasenmethode der Ovulationshemmung beeinflusst?

Auf die Zweiphasenmethode wird im Folgenden noch eingegangen (siehe Seite).

4. In welchem Ausmaß ist eine Erholfähigkeit des endokrinen Systems nach Absetzen von "Ovulationshemmern" gegeben?

Da die Analysen der einzelnen Hormone aus dem Blut methodisch zu aufwendig sind, werden diese Fragen durch Bestimmungen der im Harn ausgeschiedenen Hormone untersucht. Die Harnwerte erlauben indirekt Rückschlüsse auf die Sekretionsraten der Hormone.

Unter definierten Bedingungen wurden aus 48 Stunden-Sammelurinen von Frauen ohne Behandlung, unter einer Hormonzufuhr und nach Absetzen derselben die Gonadotropine biologisch und immunologisch bestimmt.

In Parallelarbeiten erfolgte gleichzeitig die Bestimmung der Östrogene. Die Werte sind zum Teil zusammengefaßt mit angegeben.

Aus diesen Kriterien sollen die gestellten Fragen beantwortet werden.

I. DER FUNKTIONSKREIS ZWISCHENHIRN - HYPOPHYSE - KEIMDRÜSEN

Seit den Pionierarbeiten von A s c h n e r 1912 (6), der tierexperimentell beobachtet hat, daß es bei Ausschaltung der Hypophyse zur Atrophie der Gonaden kommt, sowie auch der grundlegenden Erkenntnisse von A s c h h e i m und Z o n d e k (5), die 1927 die Zusammenhänge zwischen Ovarialfunktion und Hypophysenvorderlappen erkannten, weiß man, daß die Ovarien von den im Hypophysenvorderlappen gebildeten Gonadotropinen zu ihrer zyklischen Funktion stimuliert werden. Der Hypophysenvorderlappen ist für diese Stimulation kein autonomes Zentrum. Nach tierexperimentellen Untersuchungen von H a r r i s und J a c o b s o h n (40), H o h l w e g und J u n k m a n n (44), die bereits 1932 ein Sexualzentrum im Zwischenhirn postulierten, wird er vom Zwischenhirn gesteuert, was u.a. durch Hypophysenstielfurchtrennung von W e s t m a n n (89) und durch Injektion von Hormonen ins Zwischenhirn von H o h l w e g und D a u m e (43) bewiesen werden konnte. Ein weiterer Nachweis der Beteiligung von Zwischenhirnkernen an diesen Regulationen wurde von S c e n t a g o t h a i, F l e r k o u.a. durch isolierte Ausschaltung bestimmter Zwischenhirnkerne geführt (76). Neuere Untersuchungen haben Beweise erbracht, daß vom Zwischenhirn zwei gonadotropin-freisetzende Faktoren humoral über das Portalgefäßsystem den Hypophysenvorderlappen zur Produktion und Sekretion von FSH und LH stimulieren. Es handelt sich dabei um Polypeptide, die als FSH-LH-releasing Faktoren bezeichnet werden. Ausgedehnte Untersuchungen von H o h l w e g haben gezeigt, daß das Zwischenhirn von der Höhe des Keimdrüsen-Hormonspiegels im Blut rückbeeinflusst wird. Es regt bei absinkendem Keimdrüsen-Hormonspiegel die gonadotrope Funktion im Hypophysenvorderlappen an, während bei steigendem Keimdrüsen-Hormonspiegel diese weniger oder nicht stimuliert wird. Daraus ergibt sich, daß Zwischenhirn,

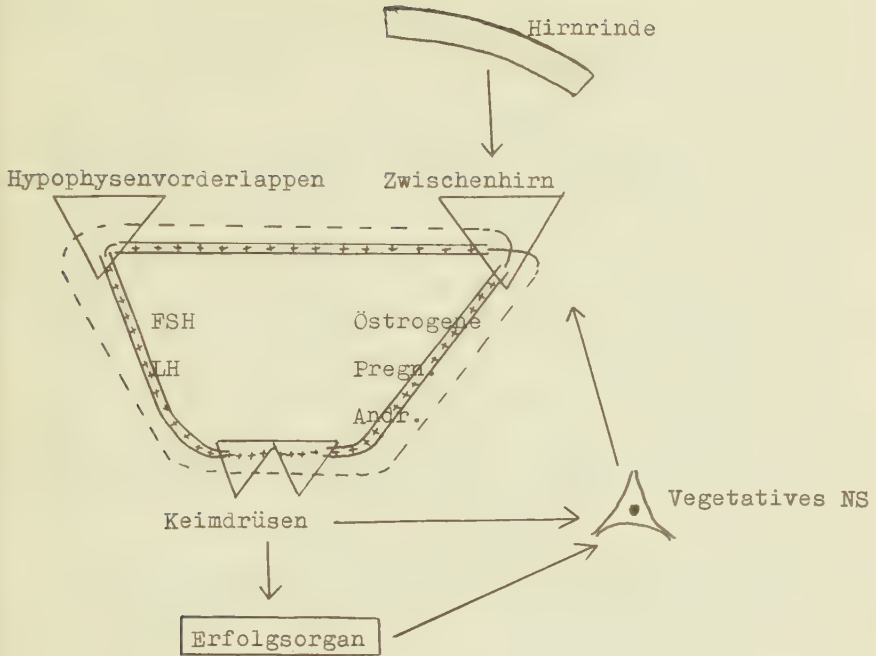
Hypophysenvorderlappen und Keimdrüsen einen Funktionskreis bilden, der entsprechend dem Reglerprinzip gesteuert wird. Was diesen Funktionskreis im Einzelnen zur Zeit der Menarche aktiviert und seine rhythmische Funktion aufrechterhält, ist nicht genau bekannt.

Der auslösende Faktor für dieses Geschehen wird im Zwischenhirn vermutet.

Eine gegenseitige Beeinflussung der peripheren und zentralen Hormonbildung im Sinne eines Reglersystems, das im Hypothalamus überwacht wird - B i c k e n b a c h (9), H o h l w e g und J u n k m a n n, H a r r i s, W e s t m a n n und J a k o b s o h n, H o h l w e g und D a u m e; B u c h h o l z; S c h m i d t - E l - m e n d o r f f, L a b h a r t (56) u.a. - steht jedoch außer Zweifel. Das zyklische Geschehen soll auch in einem gewissen Grade durch Impulse aus der Großhirnrinde beeinflusst werden. Beim Menschen ist in diesem Zusammenhang an die Notstandsamenorrhoe - T i e t z e (85) -, Fluchtamenorrhoe - M a r t i u s H. (67) - und Nachkriegsamenorrhoe - H e y n e m a n n (42) - zu denken.

Ein weiterer Beweis für eine zentripetale Beeinflussung des Sexualzentrums ist das Ausbleiben der Ovulation bei Durchtrennung des Rückenmarks - B i c k e n b a c h (1') -, sowie die Auslösung einer Ovulation nach Cervixreizung beim Menschen - B i c k e n b a c h und D ö r i n g (10). Auch das vegetative Nervensystem muß in diese Betrachtung mit einbezogen werden.

Diese Zusammenhänge sind im folgenden Schema graphisch dargestellt (s.S. 3).



Wechselseitige Steuerung nach dem Prinzip des selbstregulatorischen Funktionskreises.

II. DIE GONADOTROPEN HORMONE DES HYPOPHYSEN VORDERLAPPEN

Entsprechend ihrer biologischen Aktivität werden heute drei gonadotrope Hormone des Hypophysenvorderlappen unterschieden:

- a) das Follikel - Stimulierende - Hormon = FSH
- b) das Luteinisierende Hormon bzw. Interstitial - Cell - Stimulating Hormone = LH oder ICSH
- c) Luteotrope Hormon oder Prolaktin = LTH

Es handelt sich um hochmolekulare Eiweißkörper, die mit Ausnahme des LTH ein Polysacharidanteil enthalten Kneer (55). Die Bedeutung eines Gonadotropins mit luteotroper Wirkung (LTH) ist für das zyklische Geschehen nach Bettendorf beim Menschen umstritten.

Ob es sich beim FSH und ICSH um getrennte Hormone oder nur um Komponenten eines einheitlichen Eiweiß - Trägermoleküls handelt, ist noch nicht klar.

Alle bisher gewonnenen Substanzen enthalten sowohl FSH-, als auch ICSH-Aktivität. Obwohl Isolierungsversuche zu biologisch sehr aktiven Substanzen geführt haben, gibt es bisher noch kein chemisch reines Gonadotropin.

Diese hypophysären Gonadotropine werden mit dem Urin ausgeschieden und sind mit biologischen Testmethoden hinsichtlich ihrer FSH- und LH-Aktivitäten bestimmbar. Die FSH-Aktivität kann mit dem Augmentationstest nach Steelman und Fohley (80) an infantilen simultan mit Choriongonadotropin behandelten Rattenweibchen erfasst werden, die ICSH-Aktivität mit dem ventralen Prostatalappen-Gewichtstest oder dem "Ascorbic acid depletion"-Test nach Parlow. Für klinische Untersuchungen hat sich der Maus-Uterus-Gewichtstest nach Tyndale eingebürgert, der sich unter der Voraussetzung, daß keine Östrogene im Testmaterial enthalten sind, als spezifisch für Gonadotropine erwiesen hat. Er beruht auf der Gewichtszunahme der Uteri infantiler

Mäuseweibchen, ist jedoch nicht spezifisch zum Nachweis einer FSH- oder LH-Aktivität.

Nach O v e r b e e k gehen die im Maus-Uterus-Gewichtstest erhaltenen Werte jedoch weitgehend parallel mit denen, die mit ICSH spezifischen Tests erhalten werden, was bei Anwesenheit einer "gewissen Menge" von FSH-Aktivität für eine weitgehende ICSH-Empfindlichkeit des Maus-Uterus-Gewichtstests spricht.

Die kleine Menge an FSH-Aktivität ist erforderlich, um in synergistischer Weise die ICSH-Aktivität zur Wirkung gelangen zu lassen, da die höchstgereinigten FSH- und auch ICSH-Präparate in biologischen Testen praktisch keine Wirkung mehr haben.

Der im Harn nachweisbare Gonadotropingehalt stellt nur einen Bruchteil des vom Hypophysenvorderlappen gebildeten und ausgeschütteten Gonadotropins dar. Nach J o h n s e n und H a m b u r g e r (48) werden die hypophysären Gonadotropine zu 6 % und nach S a l v a t i e r r a zu 7,7 % im Harn ausgeschieden. Der größte Teil wird im RES abgebaut, was v . E i c k s t e d t (28) durch Blockade der RE-Zellfermente nachweisen konnte. Wenn man diese Raten als annähernd konstant ansieht, gestattet die Bestimmung der Harngonadotropine Rückschlüsse auf die Aktivität des Hypophysenvorderlappens hinsichtlich seiner gonadotropen Sekretionsraten.

III. DIE BASALTEMPERATUR UND AUSSCHIEDUNGEN DER HORMONE IM OVULATORISCHEN ZYKLUS

A. DIE BASALTEMPERATUR

Die Messung der Basaltemperatur ist die einfachste Methode zur Kontrolle der Ovarialfunktion.

Die nach mindestens 6 Stunden Nachtruhe oral, besser aber rectal gemessene Körpertemperatur liegt während der Follikelphase etwa zwischen $36,4^{\circ}$ bis $36,5^{\circ}$ Celsius, sie steigt dann in 1 oder 2 Tagen um $0,4^{\circ}$ bis $0,6^{\circ}$ Celsius an und bleibt während der Corpus-Luteum-Hormon (CLH)-Phase auf dieser Höhe. Diese CLH bedingte hypertherme Phase dauert bei fertilen Frauen nach Bickelbach und Döring durchschnittlich 12 bis 13 Tage (8), nach Kaiser, Mackert und Keyl 12,6 bis 13,5 Tage (50). Der intermenstruelle Anstieg der Basaltemperatur soll ein direkter Effekt der beginnenden Progesteronproduktion sein und 2 Tage nach dem Follikelsprung erfolgen (8).

Der Basaltemperaturverlauf ist jedoch nicht in jedem Falle charakteristisch und beweisend für eine Ovulation.

So konnte Hammersstein (39) bei einem von 10 Zyklen keinen BT-Anstieg feststellen, aufgrund des Progesteronanstieges konnte jedoch eine Ovulation angenommen werden.

Die gleichen Beobachtungen machten Brown und Mitarbeiter. Bei fehlendem BT-Anstieg sind also weitere diagnostische Maßnahmen nötig, um das Fehlen einer Ovulation zu sichern.

B. DIE GONADOTROPINAUSSCHIEDUNG IM URIN

1. Gesamtgonadotropine

Die Ergebnisse der einzelnen Untersucher über die Ausscheidungsgipfel, sowie die durchschnittliche Ausscheidung des Gesamtgonadotropinkomplexes im Harn weichen etwas voneinander ab. Levin (1945), Pedersen ——— Bjer-

g a a r d (1948) fanden einen ausgeprägten Ausscheidungs-
gipfel in der Mitte des Zyklus.

D ' A m o u r (1939), D ' A m o u r und W o o d s
(1941) fanden einen weiteren Gipfel vor Eintritt der Menstrua-
tion.

D ' A m o u r , F u n k und L i v e r m a n n (1939),
M a i n , C o x , N e a l und S t o e c k e l (1943)
und W e r n e r (1941) beschrieben dagegen eine Vielzahl
von Ausscheidungsgipfeln.

Auch in der neueren Literatur gibt es widersprechende Mittei-
lungen. Bei 17 untersuchten Frauen beobachtete B u c h -
h o l z (21) sowohl einen Anstieg der Gesamtgonadotropine,
als auch des LH. Nahezu immer konnten H a m m e r s t e i n ,
sowie auch W ü r t e l e und Mitarbeiter mit der biologi-
schen Testierung nach K l i n e f e l t e r ein isolier-
tes Gonadotropinmaximum in Zyklusmitte nachweisen. J o h n -
s e n gelang dieses dagegen nur in 10 von 12 Fällen (48).
Auch K a i s e r , M a c k e r t , K e y l (50) stell-
ten in 5 untersuchten Zyklen ein signifikantes Maximum der Go-
nadotropinaktivität um Zyklusmitte fest. Es betrug im Mittel
17 mg HMG 20A / 24-Stunden-Urin, die Werte lagen zwischen 9,7
und 31,6 mg. Die durchschnittliche Gonadotropinausscheidung
im Zyklus wird von den oben genannten Autoren mit 8 (5 bis 17)
mg HMG 20A angegeben.

S c h m i d t - E l m e n d o r f f gibt dagegen als ovula-
torischen Durchschnittswert der Gesamtgonadotropinausschei-
dung 6,9 mg HMG 20A an.

B o r t h und Mitarbeiter fanden bei 6 untersuchten Zyklen
nur 2 eindeutige Mittzyklusgipfel, dreimal waren sie fraglich
und in einem Fall fehlte der Anstieg.

B r o w n und Mitarbeiter haben in 7 von 9 untersuchten Zyk-
len ein Gonadotropinmaximum zwischen 13 und 40 mg HMG 20A um
die Zyklusmitte nachgewiesen.

Im krassen Gegensatz zu den Mitteilungen der oben genannten
Autoren stehen die Angaben von L o r a i n e und Mitarbei-

ter (61 + 62). In 11 untersuchten Zyklen fanden sie nur 3mal ein Gonadotropinmaximum in Zyklusmitte.

Die Bedeutung des ovulatorischen Gonadotropinmaximums wäre durch die Lorainescnen Befunde in Frage gestellt, jedoch sind diese bisher noch nicht von anderer Seite bestätigt worden.

2. Follikelstimulierendes Hormon - FSH

Luteinisierendes Hormon - LH

Die Untersuchungen über die Ausscheidung von FSH- und LH-Aktivität im Urin während des Zyklus ergaben unterschiedliche Resultate, obwohl spezifische Testmethoden angewandt wurden. B u c h h o l z (22) berichtete über gleichsinnig verlaufende Ausscheidungskurven für die gesamtgonadotrope Aktivität und die LH-Aktivität mit einem deutlichen Mittzyklusgipfel. S c h m i d t - E l m e n d o r f f (78) fand eine gleichsinnige Ausscheidung auch für die FSH-Aktivität, sodaß danach sowohl für die gesamtgonadotrope Aktivität, als auch in gleicher Weise für die FSH- und LH-Aktivität Gipfel um Zyklusmitte bestehen müßten.

Diesen Angaben stehen die Ergebnisse der Untersuchungen von F u k u s h i m a , S t e v e n s u.a. (30), L e o n e u.a. (57) und T a y m o r (83) gegenüber. Diese fanden ein ungleichsinniges Verhalten von FSH- und LH-Aktivität im Urin. Nach F u k u s h i m a hat die FSH-Ausscheidung am Zyklusbeginn einen Gipfel, während die LH-Ausscheidung um Zyklusmitte ein eindeutiges Maximum hat, wo die FSH-Ausscheidung ein Minimum aufweist.

Bei 11 normalen Menstruationszyklen lagen die FSH-Gipfel um den 4. bis 5. Zyklustag mit 100 - 200 FSH (NIH-Standard-Aktivität).

Die maximale LH-Ausscheidung in Zyklusmitte lag zwischen 90 bis 150 $\times$ NIH-LH-Aktivität / 24-Stunden-Urin.

C. ÖSTROGENE IM URIN

Von zahlreichen Östrogenen, die inzwischen beim Menschen isoliert wurden, haben die 3 klassischen Östrogene Östradiol, Östron und Östriol die größte Bedeutung.

Sie werden entweder als Gesamtöstrogene angegeben oder einzeln. Ihr Mengenverhältnis beträgt im normalen Zyklus 1 (Östron) : 1,5 (Östradiol) : 2 (Östriol).

Vergleicht man die 3 Harnöstrogene untereinander, so fanden Hammerstein und Brown (1959) in der Relation Östradiol, Östron und Östriol keine eindeutigen Verschiebungen in Abhängigkeit von den Zyklusphasen, während Smith und Mitarbeiter unter Anwendung einer kombinierten Ferment-Säurehydrolase zur Bestimmung der Östrogene in der Corpus-Luteum-Phase einen signifikant höheren Östriolanteil an der Gesamtöstrogenausscheidung fanden.

Brown (19), Hammerstein (39) u.a. fanden übereinstimmend 2 Östrogenmaxima im Zyklus, eines zur Zeit der Ovulation, das andere in der Corpus-Luteum-Phase, sodaß der charakteristische Kurvenverlauf der Östrogenausscheidung zweigipflig verläuft, mit treppenförmigen Anstieg bis zum Zyklusgipfel und mit einer plateauartigen hohen Ausscheidungskurve in der CLH-Phase.

Auch Lorraine und Bell (61) konnten in 15 untersuchten Zyklen eine Erhöhung der Östrogenausscheidung zur Zeit der Ovulation, sowie 7 bis 10 Tage danach während der CLH-Phase beobachten.

Vergleichende Untersuchungen zwischen Östrogenen im Harn und Serum, die von Ittrich (1960) (45) vorgenommen wurden, haben ergeben, daß die Serumwerte den Harnausscheidungen höchstens um einen Tag vorauseilen.

Der Mittelwert der Gesamtöstrogenausscheidung im Zyklus wird von Hammerstein mit 844,5 μ (531 bis 1106 μ) angegeben, die durchschnittliche Tagesausscheidung mit 32,3 μ (22,2 bis 43,2 μ).

Nach Untersuchungen von H a m m e r s t e i n (39) werden nur 16 % von parenteral applizierten Östrogenen im Harn wieder ausgeschieden. Berücksichtigt man die metabolische Verlust-rate, so erhöht sich die Ausscheidungsrate auf 22 bis 23 %. H a m m e r s t e i n errechnete aufgrund dieser Ergebnisse von 11 Zyklen unter Berücksichtigung der metabolischen und durch Inaktivierung errechenbaren Verlustraten eine mittlere ovarielle Östrogenproduktion von 7,5 mg (5,3 bis 9,9 mg) pro Zyklus, während B r o w n (1957) (19) 4,8 mg angibt.

D. PREGNANDIOL IM URIN

Pregnandiol ist das Ausscheidungsprodukt des Gelbkörperhormons Progesteron. Die Pregnandiolausscheidung ist in der ersten Zyklusnälfte niedrig < 1 mg / 24-Stunden-Urin, wenn man von einem kleinen praevulatorischen Gipfel absieht, dessen Bedeutung heute noch nicht klar ist.

Der erste luteale Pregnandiolanstieg wird durchschnittlich am 17. (13. bis 21.) Zyklustag beobachtet. Die luteale Pregnandiolausscheidung dauert durchschnittlich 12 Tage mit einer Variationsbreite von 10 bis 14 Tagen.

Das luteale Maximum wird mit 4,9 (3,5 bis 7,5) mg angegeben. Die Gesamtausscheidung an Pregnandiol im Zyklus wird von H a m m e r s t e i n (39) mit 65,6 (50,9 bis 87,0) mg vermerkt.

Ähnlich wie bei den Östrogenen erfolgt auch die Verstoffwechselung des Progesterons und die Ausscheidung als Pregnandiol sehr schnell.

K l o p p e r und M i c h i e (1956) (54) nahmen eine mittlere Umwandlungsrate von Progesteron zu Pregnandiol von 12 % an. Legt man die Umwandlungsrate und die von H a m m e r s t e i n gefundene mittlere luteale Pregnandiolausscheidung von 24,9 mg mit einer Variationsbreite von 14 bis 42 mg zugrunde, so ergibt sich eine Progesteronbildung im Zyklus von ca. 200 mg, was mit Untersuchungen von K a u f m a n n aus den Jahren 1953 und 1955 übereinstimmt (51, 52).

Der Anteil an Pregnandiol im Urin, der aus der Nebennierenrinde stammt, kann vernachlässigt werden, da die NNR-Aktivität durch die Alltagsbelastung noch keinen Einfluss auf die Pregnandiolausscheidung hat. Sie geht über die sogenannte Basisproduktion von $< 1,0$ mg nicht hinaus.

E. KORRELATION VON BASALTEMPERATUR UND MAXIMA DER HORMON-AUSSCHIEDUNGEN

Die Ausscheidungsmenge der Hormone im Zyklus steht in zeitlicher Korrelation zur Basaltemperatur.

K a i s e r , M a c k e r t und K e y l (50) beobachteten bei 5 untersuchten Zyklen in 3 Fällen, daß das Maximum der Gesamtgonadotropinausscheidung jeweils 24 Stunden vor bis 24 Stunden nach dem letzten Tiefwert der Basaltemperatur, in 2 Fällen innerhalb der beiden Tage des Temperaturtiefs lag. Die Zeitspanne zwischen der maximalen Gonadotropinausscheidung und Einsetzen der Menstruation beträgt 13 bis 16 Tage. Die Ausscheidungswerte der Östrogene lassen 2 Maxima erkennen. Das erste wurde in dem 24-Stunden-Urin am letzten Tag des Temperaturtiefs gefunden, in einem Fall einen Tag früher.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die typischen Veränderungen der Gonadotropin-, Östrogen- und Pregnandiolausscheidungen im Zyklus, sowie der Basaltemperaturkurvenverlauf zwar eine Ovulation nicht direkt und absolut beweisen wie z.B. eine Laparatomie oder Kuldoskopie (Douglasskopie), sie können aber in ihrer Gesamtheit als sehr verlässliche Kriterien für den ovulatorischen oder anovulatorischen Charakter eines Zyklus gelten.

IV. HORMONAUSSSCHEIDUNG IM ZYKLUS UNTER EXOGENER KEIMDRÜSENHORMON- ZUFUHR

Es kann aus den dargestellten Beziehungen zwischen Zwischenhirn-Hypophysenvorderlappen und Keimdrüsen (s.S. 3) abgeleitet werden, daß eine Keimdrüsenhormonzufuhr zur Hemmung von Zwischenhirn und Hypophysenvorderlappen führen muß. Bereits 1921 hat H a b e r l a n d t (35) über die hormonale Sterilisierung des weiblichen Tierkörpers berichtet. 1944 beschrieben B i c k e n b a c h und P a u l i k o v i c s (12) eine Hemmung der Follikelreifung durch Progesteron. Im Prinzip kann man mit allen Keimdrüsenhormonen bei genügend hoher Dosierung die Hypophysenvorderlappentätigkeit bremsen und auf diesem Wege die generative Funktion der Gonaden blockieren.

Dieses Prinzip wird bei der seit wenigen Jahren üblichen hormonalen Kontrazeption benutzt, um temporäre Graviditäten zu verhindern. Die Hemmung der generativen Ovarialfunktion ist mit einer verminderten Produktion der ovariellen Hormone vergesellschaftet. Die Hemmung der HVL-Aktivität wird in der verminderten Gonadotropinbildung und Ausscheidung wiedergespiegelt.

B u c h h o l z (23) fand, daß Östrogene die gonadotrope HVL-Funktion stark hemmen, daß diese Hemmwirkung des Testosterons 100mal schwächer ist als die der Östrogene und die des natürlichen Progesterons wiederum 20mal schwächer als die des Testosterons.

Hingegen haben Progestagene, unter denen gestagenwirksame synthetische Testosteronderivate verstanden werden, wieder eine stark ausgeprägte Hemmwirkung auf die gonadotrope HVL-Funktion. Für die Hemmwirkung dieser einzelnen Substanzen ist neben der Dosis auch die Applikationsart von Bedeutung, d.h., ob sie oral oder parenteral verabreicht werden. Die synthetischen Testosteronderivate mit gestagener Wirkung und Östrogene sind oral gut wirksam. Nach B u c h h o l z (23) senken

20 mg Progesteron/die die Gonadotropinausscheidung im Harn klimakterischer Frauen nicht, 200 mg Progesteron oder 250 mg Proluton-Depot (Hydroxy-progesteron-kapronat) bewirken eine mäßige Senkung der Gonadotropinausscheidung.

Norethisteron und Lynestrenol in einer Dosis von 15 mg/die reduzieren die Harngonadotropine stark.

Bei geschlechtsreifen Frauen wurde die Wirkung auf die gonadotrope HVL-Funktion von folgenden Substanzen, die täglich verabreicht wurden, untersucht:

1. 4,0 mg Äthinylornotestosteronazetat (Norethisteronazetat)
+ 0,05 mg Äthinylöstradiol
2. 15 mg Norethisteron
3. 0,06 mg (= 60 µg) Äthinylöstradiol
4. 15 mg Lynestrenol

Unter allen Substanzen in oben genannter Dosierung kam es im Vergleich zu normalen Menstruationszyklen zu einer deutlichen Reduzierung der Gonadotropinausscheidung. Der Mittzyklusgipfel, der bei Kontrolluntersuchungen stets gefunden wurde, fehlte. Der reduzierten Östrogenausscheidung zufolge war das Follikelwachstum gehemmt. Nach der Östrogen- und Pregnandiolausscheidung konnte man schließen, daß die Ovulation und die Bildung eines normalen Corpus luteum unterdrückt waren.

T a y m o r und K l i b a n o f f (84) bestimmten die Pregnandiolausscheidung nach K l o p p e r in der 1. und 2. Zyklushälfte bei 6 Frauen über 2 Zyklen unter Behandlung mit 2,5 mg und 5 mg Äthinylornotestosteronazetat/die vom 3. bis 25. Zyklustag.

Unter der Dosierung von 2,5 mg Äthinylornotestosteronazetat war die Pregnandiolausscheidung im Urin im 1. und 2. Zyklus je 2mal nicht vermindert, dagegen ergaben 5mg eine deutliche Verminderung.

S c h m i d t - M l m e n d o r f f und K o p e r a (79) bestimmten die Gesamtgonadotropin-, FSH- und LH-Ausscheidung im Zyklus unter Lynestrenol allein in unterschiedlicher Dosierung und in Kombination mit Mestranol.

FSH-, LH- und gesamtgonadotrope Aktivitäten waren unter 15 mg Lynestrenol oder 5,0 mg und 2,5 mg Lynestrenol in Kombination mit 150 μ oder 75 μ Mestranol gehemmt. 5 mg Lynestrenol allein hemmten nur die LH- und gesamtgonadotrope Aktivität, die FSH-Werte blieben unbeeinflusst. Danach kommt für die Hemmung der FSH-Aktivität dem Östrogenzusatz eine wesentliche Bedeutung zu.

R a u s c h e r und L e e b (71) haben den morphologischen Beweis erbracht, daß 4,0 mg und 6,0 mg ANTA in Kombination mit 30 μ und 50 μ Äthinylöstradiol die Ovulation hemmen. Die Autoren laparatomierten 25 bis 37-jährige Frauen mit vorher normalen biphasischen Zyklen unter obiger Therapie und fanden an den Ovarien weder makroskopisch noch mikroskopisch reife Follikel oder Corpora lutea.

Auch die alleinige Östrogenverabreichung vom 5. bis 19. Zyklustag mit nachfolgender Östrogen-Gestagen-Gabe bis zum 24. Zyklustag, wie sie von K a i s e r und unabhängig davon von Goldzieher als sogenannte Sequentialmethode zur Kontrazeption empfohlen wurden, kann zur Hemmung der Gonadotropine und der ovariellen Steroide führen.

K a i s e r und D a u m e (49) fanden unter 50 μ Äthinylöstradiol eine Hemmung der Gonadotropin- und Östrogenausscheidung, in einem anderen Fall unter gleicher Dosierung die genannten Hormonausscheidungen jedoch unbeeinflusst, was auf individuelle Unterschiede in der Wirkung hinweist und das mögliche Auftreten von Durchbruchsovulationen bei dieser Dosierung aufzeigt.

Im Gegensatz zu Mitteilungen, daß die Gonadotropinausscheidung durch synthetische Gestagene gehemmt wird, haben die Edinburgher Arbeitsgruppe B r o w n , F o t h e r b y und L o r a i n e (17, 18); L o r a i n e (59); L o r a i n e , B r o w n und F o t h e r b y (65) sowie auch M a t s u m o t o , I t o & I n o u e (68) berichtet, daß die Gonadotropinausscheidung unter Norethisteron bei normal menstruierten Frauen unbeeinflusst bleibt. Die Autoren stellten die Hypothese auf, daß Norethisteron

seinen ovulationshemmenden Effekt durch direkten Einfluß auf die Ovarien entfaltet und nicht über die Hemmung der HVL-Funktion.

Die zentrale Hemmung ist von verschiedenen Untersuchern immer wieder gefunden worden, während die Ergebnisse der oben genannten Autoren bisher nicht erneut bestätigt wurden. Die zentrale Hemmung wird somit als ein erwiesener Wirkungsmechanismus betrachtet, was jedoch nicht ausschließt, ob daneben nicht auch eine Direktwirkung der genannten Steroide auf das Ovarium vorhanden ist.

V. METHODIK DER GONADOTROPINBESTIMMUNG

A. GONADOTROPINBESTIMMUNG MIT DEM MAUS-UTERUS-TEST (MUT)

Für die Bestimmung der im Harn ausgeschiedenen Menge hypophysärer Gonadotropine ist erstens die Gewinnung des Hormons aus dem Harn und zweitens seine Aktivitätsbestimmung im biologischen Test erforderlich.

Die Isolierung des Hormons ist nötig, um die mitunter sehr geringe Hormonmenge konzentrieren zu können und die im Harn enthaltenen toxischen Substanzen zu eliminieren. Der Arbeitsgang besteht im Prinzip aus einer Absorption des Proteohormons, aus der Elution vom Absorptionsmedium und anschließender Eiweißfällung = Präzipitation bzw. der Kombination der genannten Möglichkeiten.

Diesen Schritten können weitere Verfahren zur Reinigung angeschlossen werden. Die so gewonnenen Extrakte werden in abgestufter Dosierung infantilen Testtieren injiziert. Als Maß der Gonadotropinwirkung kann der Einfluss auf das Wachstum der Gonaden oder der Geschlechtsorgane herangezogen werden. Zur Absorption wird in der Regel eine anorganische Substanz, das Kaolin (Bolus alba der Firma Mack) Albert (3), Johnson (46), Lorraine (64) verwandt,

Die Elution erfolgt in wässriger Phase (Aqua.aest.) Zum Präzipitieren wird Alkohol Heller (41), Aceton Engle (29) oder Benzoesäure - Wolframsäure Butt (24) genommen. Das gewonnene Präzipitat kann weiter zum Beispiel mit Tricalciumphosphat nach Butt und Crooke gereinigt werden.

Bei allen Aufarbeitungsschritten ist die Einhaltung ganz bestimmter pH-Stufen entscheidend wegen der unterschiedlichen Löslichkeitsverhältnisse des Hormons in den verschiedenen pH-Bereichen.

Als Kaolin-Aceton-Methode steht uns außer der von Lorraine

und Brown noch die Druckfiltration nach Albert (134) zur Verfügung.

Außerdem sollen noch die Gerbsäuremethode nach Johnson (37) und die Ultrafiltrationsmethode nach Vierneisel (38) genannt werden.

Auch chemisch wurde versucht, die Gonadotropine im Harn zu bestimmen und zwar mittels Papierelektrophorese, Polarographie und Kolorimetrie Belle und Helmers (7), Drescher (26), Braga (15), Segaloff und Steelman (81), Tocantius und De Souza-Leao (36). Diese Versuche brachten jedoch keine für die Praxis brauchbaren bzw. hinreichend genauen Ergebnisse.

Da die chemische Bestimmung wegen der hochmolekularen, unbekannten Struktur der Gonadotropine sehr schwierig ist, gibt es bis heute keine exakte, spezifische chemische Nachweismethode für Gonadotropine.

Für die gewonnenen Extrakte können die Keimdrüsen oder von diesen abhängige Erfolgsorgane von Laboratoriumstieren (Ratten und Mäusen) als Testobjekte herangezogen werden.

Eine direkte Gonadotropinwirkung kann an den Keimdrüsen abgelesen werden, eine indirekte an den Erfolgsorganen z.B. dem Uterus.

Die Testorgane reagieren in Form von Gewichtszunahme, histologischen Veränderungen oder Hyperämie.

Zum quantitativen Nachweis der Gesamtgonadotropine hat sich heute als die brauchbarste Testmethode die Bestimmung der Uterusgewichtszunahme bei infantilen Mäusen, der sogenannte Maus-Uterus-Gewichtstest nach Levin und Tyndale (58) erwiesen.

Die Gonadotropinwirkung wird indirekt durch Wägung der Vergrößerung des Uterus - östrogenbedingter Sekundäreffekt - bestimmt. Um eine endogene Hormonwirkung weitgehend auszuschalten, werden infantile Tiere verwendet.

Durch den Aufarbeitungsgang bei der Extraktgewinnung ist ge-

währleistet, daß der Test nicht durch Östrogenbeimengungen verfälscht wird.

Diese Methode hat eine Fehlerbreite von $\pm 25 - 30 \%$. Der aus 24-Stunden-Sammelurin gewonnene Extrakt wird in Abständen von 24 Stunden in 3 Portionen infantilen 8 - 11 g schweren Mäuseweibchen eines Inzuchtstammes subcutan injiziert. 24 Stunden nach der letzten Injektion wird der Uterus herauspräpariert und auf einer Torsionswaage auf $\pm 0,2$ mg genau gewogen. Diese zeitliche Versuchsanordnung mit 3maliger Unterteilung der Gesamtdosis ergibt eine optimale Wirkung des Hormons am Erfolgsorgan. Eine einmalige Injektion wirkt schlechter, mehr als 3malige Unterteilungen verbesserten die Ergebnisse nicht Alexandritis, Apostolakis und Voigt (4), Brown (16).

Diese Methode hat eine ausreichende Empfindlichkeit und Genauigkeit.

Die Empfindlichkeit ist abhängig vom verwendeten Tierstamm, die Genauigkeit von der Qualität, d.h. auch Homogenität (gewichtsmäßig) des Tiermaterials, sowie von der Konstanz der Versuchsbedingungen, wie Luft, Licht, Temperatur, Feuchtigkeit usw.

Die gonadotrope Aktivität wurde früher in Maus-Uterus-Einheiten angegeben. Eine Maus-Uterus-Einheit (MUE) ist definiert als diejenige Dosis, die einen 2 - 3fachen Anstieg des Uterusgewichtes eines infantilen Mäuseweibchens zu bewirken vermag. Da verschiedene Tierstämme unterschiedlich reagieren ist ein Vergleich der Resultate aus verschiedenen Laboratorien nicht möglich. Aus diesem Grunde wurde von dem Gonadotropinclub in Genf ein definiertes Gonadotropinpräparat aus Menopausenurin als Standardsubstanz vorgeschlagen. Es muß in jedem Labor unter den gegebenen Bedingungen getestet werden auf das die Ergebnisse dann bezogen werden.

Es trägt den Namen "Human-Menopausal-Gonadotropin" = HMG 20A.. Die Ergebnisse werden als mg HMG 20A angegeben, wobei 1 mg HMG 20A auch als 1 HMG Einheit bezeichnet wird. HMG 20A ent-

hält nach L o r a i n e und B r o w n FSH- und ICSH-Aktivität zu gleichen Teilen.

Inzwischen ist ein zweiter internationaler Standard in Gebrauch (International Reference Preparatic) IRP II. Von diesem ist keine Gewichtsbasis bekannt, er enthält jedoch pro Ampulle 40 i.U. FSH - und 40 i.U. LH-Aktivität.

Bei J o h n s e n (47) und A l b e r t (1, 2) finden sich kritische Stellungnahmen zu dem Standardproblem.

B. ANGEWANDTE METHODE DER GONADOTROPINBESTIMMUNG (BIOLOGISCH)

1. Extraktion des Gesamtgonadotropins im Harn mit der Kaolin-Aceton-Methode nach L o r a i n e und B r o w n (35)

Diese Methode umfaßt die Adsorption, Elution und Präzipitation.

Adsorption:

Der 48-Stunden-Sammelurin wird durch Zugabe von 1/10 n HCl auf pH 4 eingestellt. Danach werden 2 g Kaolin (Bolus alba der Firma Merck) in 5 ccm Aqua.dest. suspendiert und pro 100 ccm Urin zugegeben. Es wird erneut der pH-Wert kontrolliert. Diese Kaolin-Urin-Suspension wird 45 Minuten in einer Schüttelmaschine geschüttelt und danach mindestens 30 Minuten zum Absetzen des Kaolins in den Eisschrank gestellt.

Die überstehende Flüssigkeit wird zu 3/4 mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt und der Rest 10 Minuten bei 4000 Umdrehungen/Min. zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird abgegossen. Die Gonadotropine sind bei diesem Vorgang an das Kaolin adsorbiert worden.

Elution:

Der Kaolinsatz wird in so viel Aqua.dest. suspendiert, wie zur anfänglichen Suspension nötig war, d.h. 5 ccm Aqua. dest. pro 100 ccm Urin.

Diese Suspension wird mit n/10 NaOH auf pH 11,3 eingestellt, 20 Minuten umgerührt und danach 10 Minuten bei 4000 U/Min.

zentrifugiert.

Die Gonadotropine befinden sich jetzt in der überstehenden Flüssigkeit, die gesammelt und mit $n/10$ HCl auf pH 5 eingestellt wird.

Präzipitation:

Zu diesem Eluat werden 5 Volumen kaltes Aceton gegeben und zur Bildung des Präzipitates über Nacht in den Eisschrank gestellt.

Das durch 10 Minuten bei 4000 U/Min. zentrifugieren erhaltene Präzipitat wird mit Alkohol und Äther gewaschen und in einem Exsiccator über Calcium-Chlorid aufbewahrt.

Reinigungsverfahren

Zur Verringerung der Toxizität wird der Rohextrakt durch das sog. "Tricalciumphosphat-Adsorptionsverfahren" gereinigt (64). Der Rohextrakt wird in Aqua.dest. 20 ml/g suspendiert, auf pH 8,3 eingestellt und 20 Minuten umgerührt, anschließend 10 Minuten bei 4000 U/Min. zentrifugiert.

Der Überstand wird aufbewahrt, der Rückstand erneut mit 5 ccm Aqua.dest. in gleicher Weise extrahiert.

Die Überstände werden vereinigt.

Pro 25 ml Überstand werden nach pH-Kontrolle 4 ml Tricalciumphosphat-Suspension nach S w i n g l e & T i s e l i u s (47) zugegeben. Nach 15 Minuten umrühren wird bei 4000 U/Min. zentrifugiert. HMG befindet sich noch in der Lösung.

Diese wird auf pH 5 eingestellt und zur Präzipitation mit 5 Volumen Aceton versetzt und mindestens 30 Minuten, meistens über Nacht in den Eisschrank gestellt.

Der hormonhaltige Extrakt wird durch Zentrifugieren und anschließende Waschung des Rückstandes mit Alkohol und Äther gewonnen.

Der so gewonnene das HMG enthaltende Reinextrakt wird in einem Exsiccator über Calcium-Chlorid aufbewahrt.

2. Biologische Aktivitätsbestimmung durch den Maus-Uterus-Gewichtstest nach L e v i n und T y n d a l e

Für den Maus-Uterus-Test nach L e v i n und T y n d a l e werden infantile Mäuseweibchen mit einem Gewicht zwischen 8 bis 11 g des "NMRI"-Stammes verwendet.

Die Haltung der Tiere erfolgt unter konstanten Bedingungen. Die Extraktmenge von 24-Stunden-Sammelurin wird in 5 ml physiologischer NaCl-Lösung gelöst. Aus einem Teil dieser Lösung wird eine 1 : 1 Verdünnungsreihe hergestellt, sodaß pro ml Testlösung jeweils 1/5, 1/10, 1/20 oder 1/40 des 24-Stunden-Sammelurinextraktes enthalten ist.

Von diesen Testlösungen werden jeweils in 24-stündigem Abstand 0,3, 0,4 und 0,5 ml subcutan pro Tier injiziert. Die Gesamtdosis wird somit über 3 Tage verteilt und in 1 ml physiologischer NaCl-Lösung verabreicht. Pro Dosis werden zunächst zwei Mäuse getestet, um den Bereich des Gewichtsanstieges zu ermitteln. In diesem Bereich werden im Haupttest 4 Tiere pro Dosis eingesetzt.

Genau 24 Stunden nach der letzten Injektion werden die Mäuse mit Äther getötet, die uteri herauspräpariert und sofort auf einer Torsionswaage gewogen.

Gleichzeitig mit unbekannten Extrakten werden je 4 Tiere in gleicher Weise mit physiologischer NaCl-Lösung, 1 mg, sowie 2 mg RMG Hausstandard/Tier getestet.

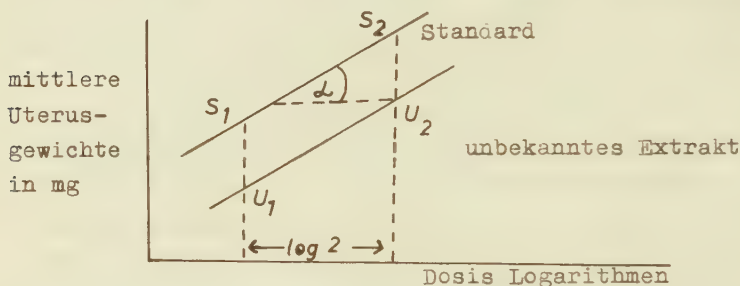
Das Uterusgewicht wird absolut verwertet, nicht auf das Mausgewicht bezogen, da die Umrechnung weder nach D i c z f a l u s y (25) noch nach G ö r d e s (Diss. hiesige Klinik 1962) Vorteile bietet.

Zur statistischen Sicherung der Ergebnisse werden 4 Tiere/Dosis verwendet. Das Prinzip dieser Methode ist ein Vergleich eines unbekannten Präparates mit einem bekannten Standardpräparat.

Der praktischen Durchführung dieses Testes liegt die sog. 4 Punkte-Methode zugrunde.

Graphisch sind auf der Ordinate die mittleren Uterusgewichte/ Dosis in mg aufgetragen, auf der Abszisse die Dosis Logarithmen.

Darstellung der Wirkungsgeraden nach dem 4 Punkte-Prinzip:



Die beiden Punkte der zwei Kurven entsprechen dem geraden Teil ihres durch verschiedene Dosierungen erhaltenen Gewichtsanstieges. Zur leichteren Berechnung sind sie halblogarithmisch umgestaltet, wobei der Dosisabstand konstant $\log 2$ ist.

Die statistische Sicherung der Ergebnisse erfolgt nach B o r t h , D i c z f a l u s y u n d H e i n r i c h s (14).

Wegen der breiten Anwendung, die dieses Auswertungsverfahren gefunden hat, wird auf eine detaillierte Beschreibung verzichtet. Die Berechnung der Gültigkeitskriterien ist dem Beispiel beim Wiederfindungsversuch auf Seite 28 zu entnehmen.

C. IMMUNOLOGISCHER NACHWEIS VON HCG - LH ÄQUIVALENTEN IM URIN

1. Allgemeines über die immunologische Bestimmung

W i d e (90) gelang es, durch die sog. Hämagglutinations-Verhinderungsmethode das Choriongonadotropin immunologisch nachzuweisen.

Danach konnten es W i d e und G e m z e l l bei großer Empfindlichkeit der Testsubstanzen in der Mitte des normalen Zyklus und im Menopausenurin Gonadotropine immunologisch bestimmen (91). Es soll mit dieser Methode allerdings nur das LH erfaßt werden.

Durch die hohe Empfindlichkeit der immunologischen Methode kann die Gonadotropinbestimmung aus 50 bis 100 ml Urin erfolgen. Das Hormon wird dazu aus dem Urin extrahiert, der Extrakt dann auf seinen Hormongehalt getestet.

Die mit 100 ml relativ geringe Urinmenge erschien geeignet für die Anreicherung des Hormons eine Alkoholfällung anzuwenden, bei der mit der 5fachen Alkoholmenge das Gonadotropin gefällt und dann abzentrifugiert wird. Für die immunologische Bestimmung haben D a u m e , K a i s e r und G e i g e r (31) eine fraktionierte Fällungsmethode mit zunächst einem, dann 5 Volumen Alkohol unter Verschiebung des pH-Wertes von 11 auf 5 angegeben, die reinere Extrakte ergab und sich für die immunologische Bestimmung als günstig erwiesen hat. Dabei kommt eine 50 bis 100fache Konzentrierung der Gonadotropine im Harn zustande.

Das Prinzip der Hämagglutinations-Verhinderungsmethode beruht auf 4 Erkenntnissen:

- a) Ein Antigen verbindet sich in einer Lösung mit dem entsprechenden Antikörper (Antigen-Antikörper-Reaktion). Der Vorgang ist im Reagenzglas nicht sichtbar.
- b) Werden Erythrozyten mit Gerbsäure vorbehandelt, so lassen sich z.B. Eiweißantigene (HCG) auf deren Oberfläche absor-

bieren - "Boyden-Technik" (16).

- c) Diese mit Antigenen beladenen Erythrozyten setzen sich in einer isotonen Lösung in einem Glas mit hemisphärischem Boden in Form eines scharfen Ringes ab. Sie haben damit ein definiertes Sedimentationsverhalten.

Sind in der Lösung freie Antikörper, so kommt es zu einer Antigen-Antikörper-Reaktion und die Erythrozyten bilden dann einen gleichmäßigen feinen Bodensatz ohne Konturenbildung. Salk (74) konnte diese Entdeckung im Jahre 1944 mit Influenza-Agglutininen machen.

- d) Gibt man Antigen z.B. Choriongonadotropin im Schwangerenurin mit freien HCG-Antikörpern (aus Kaninchenserum) zusammen, so kommt es bereits jetzt zur Antigen-Antikörper-Reaktion, wobei die Antikörper verbraucht werden.

Die mit Antigen beladenen Erythrozyten, die zu diesem Ansatz dazugegeben werden, bekommen die Funktion eines Indikators zum Nachweis freier Antikörper.

Da die Antikörper in dem Ansatz durch die Antigen-Antikörper-Reaktion bereits verbraucht sind, setzen sich die Erythrozyten, ohne reagiert zu haben als mehr oder weniger breiter Ring scharf ab.

Wird eine Testlösung ohne Antigen (HCG) mit HCG-Antikörpern zusammengebracht, so bleiben die Antikörper frei für die Reaktion mit den HCG beladenen Erythrozyten, was durch das hierfür typische Sedimentationsverhalten (gleichmäßiger feiner Bodensatz ohne Konturenbildung) durch die Erythrozyten angezeigt wird.

Werden die Testsubstanzen, also Antikörpermenge und Antigenmenge aufeinander abgestimmt und konstant gehalten, so läßt sich dieser immunologische Test nicht nur für einen qualitativen HCG-Nachweis, sondern auch zur zumindest semiquantitativen Bestimmungen verwenden.

Nachdem die Firma Organon, Holland, trocken gefrorene HCG beladene Erythrozyten, Pufferlösung zu deren Suspension und lyophilisiertes HCG Antiserum in definierten Mengen

und in haltbarer Form anbieten konnte, fand der immunologische HCG Nachweis als Schwangerschaftstest (Pregnosticon) breite klinische Anwendung.

Diese Agentien wurden auch zu den nachfolgenden immunologischen Bestimmungen der im Harn ausgeschiedenen hypophysären Gonadotropine verwendet, was aufgrund der von W i d e beschriebenen Kreuzimmunität zwischen HCG und hypophysärem LH möglich erschien.

2. Durchführung der Bestimmungen

a) Aufarbeitung des Urins

50 ml eines 48-Stunden-Sammelurins werden auf pH 11 eingestellt, mit 50 ml 96 %igem absolutem Alkohols versetzt und 20 Minuten in den Eisschrank gestellt.

Danach wird 10 Minuten bei 4000 U/Min. zentrifugiert. Der Bodensatz (Verunreinigungen) wird verworfen und der Überstand auf pH 5 eingestellt. Nach Zugabe von 96 %igem Alkohol wird der Ansatz mindestens 30 Minuten, in der Regel über Nacht in den Eisschrank gestellt. Danach wird wieder 10 Minuten zentrifugiert bei 4000 U/Min. Der Rückstand zunächst mit Alkohol, dann mit Äther gewaschen und der so gewonnene Extrakt in einem Calciumchlorid-Exsiccator aufbewahrt.

b) Pregnosticontest

Der Extrakt wird in 1 ml Phosphatpuffer pH 6,4 gelöst, eine halbe Stunde stehengelassen, dann zentrifugiert und filtriert.

Die präzipitierten Erythrozyten werden in 4 ml Pufferlösung suspendiert und damit reaktionsbereit gemacht. In die Pregnosticonröhrchen, die das trocken gefrorene Antiserum enthalten, werden 0,1 ml des zu testenden Extraktes eingipettiert. Bei positivem Ergebnis wird eine 1 : 1 Verdünnungsreihe, die 0,05; 0,025 usw. des Extraktes enthält getestet, bei negativem Ergebnis werden 0,2 bzw. 0,4 ml

des Extraktes eines 50 ml Urins geprüft.

Dazu werden jeweils 0,4 ml von der Erythrozytensuspension gegeben.

Die Pregnosticonröhrchen werden dann 1 Minute geschüttelt und anschließend auf eine erschütterungsfreie Unterlage gestellt. Nach 2 Stunden wird das Ergebnis abgelesen.

Es wird derjenige Ring zur Berechnung herangezogen, der unmittelbar vor der negativen Reaktion auftrat.

Schema für die Ringbeurteilung: (in Anlehnung an W i d e)

Verdünnung	0	1 : 2	1 : 4
1. Beispiel	= +++	= ++	= -
2. Beispiel	= +++	= +	= -

- c) Berechnung der Gonadotropinaktivität/24 Stunden erfolgt nach der folgenden Formel:

$$x = \frac{2^n \times 1000 \times 24 \text{ Stunden (Urinmenge in l)}}{50}$$

n = je nach Verdünnung oder Konzentration

0. Verdünnung = 1

3. Vor- und Nachteile der immunologischen Gonadotropinbestimmung gegenüber der biologischen

Während für die biologische Bestimmung große Urinmengen (24- bis 72-Stunden-Sammelurine) zur Extraktgewinnung L o r a i n e und B r o w n (64) benötigt werden, erlaubt die hohe Empfindlichkeit des Pregnosticontestes schon den Nachweis von

0,08 bis 0,1 IE HCG Äqu.

Bei der Aufarbeitung von 50 ml Urin können noch 4 IE HCG Äqu. pro Liter Urin nachgewiesen werden.

Außerdem wird der immunologische Nachweis nicht durch die Toxizität des Extraktes beeinträchtigt. Der Extrakt muß nur wasserlöslich, möglichst wenig verunreinigt und klar sein.

Die Extrakte für den biologischen Test müssen dagegen wegen der Anfälligkeit der Versuchstiere möglichst arm an Toxizität sein.

Als Nachteil des Pregnosticontestes muß der subjektive Fehler, der beim Ablesen der Ringe entstehen kann genannt werden. Die Ringe können außerdem Schwankungen unterworfen sein, weswegen der Immuntest auch nur als Semiquantitativ bezeichnet wird - ähnlich wie auch Antikörpertiterbestimmungen nur in der noch positiven Verdünnungsstufe angegeben werden.

VI. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. WIEDERFINDUNGSVERSUCH UND DIE STATISTISCHE SICHERUNG DER ERGEBNISSE (BIOLOGISCHE METHODE)

Die subjektiven Fehler bei der Aufarbeitung des Urins und der Durchführung des Tiertestes wurden mit einem Wiederfindungsversuch bestimmt. Die Auswertung und die statistische Sicherung sollen als Beispiel ausführlich dargestellt werden. Der Hausstandard der Klinik wurde aus Menopausenurin nach dem Kaolin-Aceton-Extraktionsverfahren nach L o r a i n e und B r o w n mit anschließender Reinigung mit Tricalciumphosphat gewonnen.

Dieser so gewonnene Hausstandard wurde auf den internationalen Standard HMG 20 A bezogen. 1 mg Hausstandard entsprechen 0,52 mg HMG 20 A.

16 mg des Hausstandards wurden in 1 l abgekochten Männerurins gelöst und nach dem oben genannten Verfahren extrahiert und gereinigt.

Es wurden 290 mg Reinextrakt gewonnen. Von diesen 290 mg Extrakt wurde vermutet, daß 18,1 mg der Aktivität von 1 mg Hausstandard entsprechen. Demnach müßten 36,2 mg des gewonnenen Extraktes 2 mg Hausstandard entsprechen. Demzufolge wurden aus 290 mg Extrakt mittels physiologischer NaCl-Lösung 2 Testlösungen hergestellt, von denen Lösung A 36,2 mg Extrakt und Lösung B 18,1 mg Extrakt pro ml enthielt. Der Hausstandard wurde in gleicher Weise mit 2 mg und 1 mg pro ml zubereitet. Die Testierung erfolgte wie beschrieben.

Ergebnisse der Uterusgewichte im Wiederfindungsversuch:

	unbekanntes Präparat (290 mg)		Hausstandard	
Dosis	18,1 mg	36,2 mg	1 mg	2 mg
Uterusgewichte in mg	1. 10,2	40,3	9,8	51,2
	2. 11,0	28,1	12,9	47,0
	3. 10,8	46,0	11,5	70,1
	4. 9,6	38,9	10,7	48,9
Summe	41,6	153,3	44,9	217,2
Durchschnitt	$U_1 =$ 10,4	$U_2 =$ 38,8	$S_1 =$ 11,2	$S_2 =$ 54,3
Spannweite	1,4	17,9	3,1	23,1

Statistische Berechnung:

A. Vergleiche

$$U_2 + U_1 = 49,2$$

$$S_2 + S_1 = 65,5$$

$$U_2 - U_1 = 28,4$$

$$S_2 - S_1 = 43,1$$

$$\text{Regression: } 1/2 (U_2 - U_1 + S_2 - S_1) = \frac{28,4 + 43,1}{2} = 35,75 = E$$

Aktivitätsunterschied:

$$1/2 (U_1 + U_2 - S_1 + S_2) = \frac{49,2 - 65,5}{2} = -8,15 = F$$

$$\text{Pararellelität: } U_2 - U_1 - (S_2 - S_1) = 28,4 - 43,1 = -14,7 = G$$

B. Resultat

$$\text{Abstand der Dosislogarithmen } 10 \text{ g J} = 10 \text{ g } 2,0 = 0,301 = I$$

$$\begin{aligned} \text{Regressionkoeffizient: } E/I &= 35,75 / 0,301 = 118,77 = b \\ 14 \cdot 106,31 &= b^2 \end{aligned}$$

Abstand der Wirkungsgeraden:

$$F/b = - 8,15 / 118,77 = - 0,0686 = 0,9314 - 1 = M$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitätskoeffizient: antilog. } M &= \text{antilog. } (0,9314 - 1) = \\ &0,8539 = R \end{aligned}$$

Vermutete Aktivität: 18,1 mg unbek. Frap. = 1 mg Hausstandard

Ermittelte Aktivität: 18,1 mg. unbek. Frap. = 0,8539 mg Hausst.

C. Steuerungen

Gleiche Anzahl Tiere $n = 4$ in allen Gruppen

$$\text{Tafelwert für } 4 = 0,486 = f_n$$

$$\text{Anzahl der Gruppen: } k + k = 2 + 2 = 4$$

Durchschnittliche Spannweite:

$$(1,4 + 17,9 + 3,1 + 23,1) = 45,5 : 4 = 11,375$$

$$\text{Standardabweichung: } 11,375 \times 0,486 = 5,53 = s$$

$$\text{Reststreuung: } 5,53^2 = s^2$$

$$\text{Freiheitsgrad: } S (n-1) = 4 \times 3 = 12$$

Streuung der Gruppendurchschnitte:

$$s^2/n = 30,5 / 4 = 7,625 = 2,7613^2 = V$$

$$\text{Streuung der Vergleiche: } V = V (E) = A = 7,625 = 2,7613^2$$

$$4V = 4 \times 7,625 = 30,5 = 5,53^2 = V (G)$$

Streuung des Regressionskoeffizienten:

$$V(E) / I^2 = 7,625 / 0,0906 = 84,16 = V(b)$$

D. Gültigkeitskriterien

Tafelwert $t = 2,18$ für Freiheitsgrad 12

1. Regression "der Wirkungsmeter muß mit steigender Dosis zu oder abnehmen"

$$g = t^2 \times V(b) / b^2 = \frac{2,18 \times 84,16}{14106,313} = 0,0283$$

2. Parallelität "Wirkungsgeraden des unbekannten Präparates und des Standardpräparates müssen parallel sein"

$$t_1 = G / \sqrt{V(G)} = -14,7 / \sqrt{30,5} = -2,6582$$

3. Gleiche Wirkung "Unbekanntes Präparat und Standardpräparat sollen etwa die gleiche Wirkung haben"

$$t_2 = F / \sqrt{A} = -8,15 / \sqrt{7,625} = -2,9515$$

E. Präzisionsmaße und Vertrauensgrenzen

Präzisionsmaße:

$$s/b = 5,53 / 118,77 = 0,0465 =$$

$$b/s = 118,77 / 5,53 = 21,4773 = L$$

Vertrauensgrenzen:

$$\begin{aligned} m_o / m_u &= \frac{M}{1-g} \pm \frac{t}{b(1-g)} \times \sqrt{A \times (1-g) + M^2(Vb)} \\ &= - \frac{0,0686}{0,9717} \pm \frac{2,18}{118,77 \times 0,9717} \times \sqrt{7,625 \times 0,9717 + 0,0047 \times 84,16} \\ &= - 0,0706 \pm 0,0189 \times 7,4092 + 0,3927 \\ &= - 0,0706 \pm 0,0189 \times 7,8047 \\ &= - 0,0706 \pm 0,0189 \times 2,7937 \\ &= - 0,0706 \pm 0,0528 \\ &= - 0,0178 ; - 0,1234 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &= 0,9822 - 1 ; 0,8766 - 1 \\ R_o / R_u &= 0,9599 ; 0,7527 \\ &= 95,99 \% ; 75,27 \% \\ R &= 85,35 \% (75,27 \% - 95,99 \%) \end{aligned}$$

Nach diesen Berechnungen beträgt also die Wiederfindungsrate 85 %. Die Vertrauensgrenzen von 75 bis 96 % besagen, daß von 100 so angesetzten Wiederfindungsversuchen 85 ein Ergebnis im Bereich zwischen 75 - 96 % erwarten lassen

B. VERSUCHSANORDNUNG MIT ANA-NESTISCHEN DATEN DER PROBANDINNEN

An 3 Probandinnen im Alter zwischen 20 und 30 Jahren sollte ermittelt werden, wie sich im Vergleich zu einem unbehandelten Zyklus die Gonadotropinausscheidung unter einer verschieden dosierten Hormonmedikation verhält, die jeweils vom 5. bis 24. Zyklustag verabreicht wird.

Folgende Dosierungen kamen zur Anwendung:

1 mg Äthinylnortestosteronazetat (ANTA) + 50 μ Äthinylostradiol (ÄÖ)

2,5 mg ANTA + 50 μ ÄÖ

4 mg ANTA + 50 μ ÄÖ

sowie 50 μ ÄÖ vom 5. bis 19. Zyklustag und 50 μ ÄÖ + 2,5 mg ANTA vom 20. bis zum 24. Zyklustag (Sequentialmethode).

Prob. A erhielt	1.	1 mg ANTA + 50 μ ÄÖ	v. 5. bis 24. Ztg.
	2.	50 μ ÄÖ	v. 5. bis 24. Ztg.
		+ 2,5 mg ANTA	v. 20. bis 24. Ztg.
	3.	2,5 mg ANTA + 50 μ ÄÖ	v. 5. bis 24. Ztg.
4.	4 mg ANTA + 50 μ ÄÖ	v. 5. bis 24. Ztg.	

Prob. B erhielt	1.	1 mg ANTA + 50 μ ÄÖ	v. 5. bis 24. Ztg.
	2.	4 mg ANTA + 50 μ ÄÖ	v. 5. bis 24. Ztg.

Prob. C erhielt	1 mg ANTA + 50 μ ÄÖ	v. 5. bis 24. Ztg.
-----------------	-------------------------	--------------------

Die Probandinnen maßen die Basaltemperatur und sammelten ab 7. Zyklustag in 48 Stunden Portionen den Urin bis zum 26. bzw. 28. Zyklustag.

Aus diesen Urinen wurden die Gesamtgonadotropine wie beschrieben bestimmt, gleichzeitig erfolgten in einer Parallelarbeit die Bestimmungen der Harnöstrogene nach B r o w n .

Anamnestische Daten:

Probandin A (G.M.) 29 Jahre, verheiratet.

Menarche 15-jährig, Zyklus: 28 / 4 - 6 Tage, Blutungen von mittlerer Stärke mit starken dysmenorrhöischen Beschwerden.

Partus: 1, in der 37. Schwangerschaftswoche, gesunde eineiige Zwillinge - männlich.

Aborte: Ø, venerische Infektionen: Ø

Zur Konzeptionsverhütung wurde ein Jahr lang bis zu einem Monat vor Beginn der Untersuchung 4 mg ANTA + 50 µg ÖÖ genommen. Es traten bis auf eine geringe Gewichtszunahme keine Nebenerscheinungen auf. Die dysmenorrhöischen Beschwerden seien unter der Einnahme von 4 mg ANTA + 50 µg ÖÖ zwar etwas geringer, jedoch immer noch erheblich gewesen.

Der 2. und 3. Zyklus nach Absetzen von 4 mg ANTA + 50 µg ÖÖ wurde untersucht, der 3. Zyklus als Normalzyklus zum Vergleich mit den folgenden Zyklen unter erneuter Östrogen-Gestagen-Behandlung herangezogen. Probandin A erhielt nach 3 unbehandelten Zyklen im 1. Versuchszyklus 1 mg ANTA + 50 µg ÖÖ, im 2. Zyklus 50 µg ÖÖ vom 5. bis 19. Zyklustag und 50 µg ÖÖ + 2,5 mg ANTA vom 20. bis 24. Zyklustag. Im 3. Zyklus 2,5 mg ANTA + 50 µg ÖÖ, im 4. Zyklus 4 mg ANTA + 50 µg ÖÖ.

Probandin B (E.Fr.) 28 Jahre, verheiratet,

Größe 1,70 m, Gewicht 65 kg.

Menarche: 13-jährig, Zyklus: 28 - 32 / 3 - 4 Tage, Blutungen mittelstark, ohne Beschwerden.

Partus: 2, spontan - männlich und weiblich.

Aborte: 2, vor den Entbindungen, venerische Infektionen: Ø.

Auch diese Probandin hat 1 1/2 Jahre lang als Kontrazeptivum 4 mg ANTA + 50 µg ÖÖ genommen. Sie habe sich unter der Einnahme von Anovlar wesentlich wohler gefühlt als vorher. Es besteht seit Jahren Psoriasis vulgaris. Während früher auf heftige

Sonneneinwirkung immer ein akuter Schub ausgelöst worden sei, habe sie jetzt Sonne gut vertragen. Die Haut sei vollkommen glatt geworden. Den gleichen Effekt beobachtete die Probandin während der durchgemachten Graviditäten.

Die letzte 4 mg ANTA + 50 σ ÄÖ -Einnahme erfolgte bis zum Zyklus vor Beginn der Untersuchungen, so daß in diesem Fall bereits der 1. Zyklus nach 1 1/2-jähriger 4 mg ANTA + 50 σ ÄÖ-Medikation zur Untersuchung kam. Es wurden 2 unbehandelte Zyklen untersucht, der 2. Zyklus als Normalzyklus betrachtet.

Sodann erhielt die Probandin:

über einen Zyklus 1 mg ANTA + 50 σ ÄÖ,
im nächsten Zyklus 2,5 mg ANTA + 50 σ ÄÖ und
in dem folgenden Zyklus 4 mg ANTA + 50 σ ÄÖ, jeweils vom
5. bis 24. Zyklustag.

Probandin C (K.M.) 28 Jahre, ledig, vegetativ sehr labil
Größe 1,68 m, Gewicht 62,5 kg.

Menarche: im 15. Lebensjahr, Zyklus: 26 - 28 / bis 8 Tage,
Blutungen von mittlerer Stärke, starke dysmenorrhoeische Beschwerden, sogar mit Übelkeit und Erbrechen.

Partus: $\emptyset$. Aborte: $\emptyset$, venerische Infektionen: $\emptyset$.

Bei dieser Probandin wird nur ein unbehandelter Zyklus und im Vergleich dazu ein Zyklus unter 1 mg ANTA + 50 σ ÄÖ vom 5. bis 24. Zyklustag untersucht..

C. ERGEBNISSE

Die Gesamtgonadotropinausscheidung im Urin in den unbehandelten Zyklen und unter Hormontherapie.

1. Die unbehandelten Zyklen

Probandin A (G.M.)

Zyklusdauer 28 / 5 Tage (5 Tage = Dauer der Menstruation),
Basaltemperatur (BT) biphasisch, 13 Tage hypertherm.

Hormonbestimmungen: vom 7. bis zum 28. Tag.

Die maximale Gonadotropinausscheidung (biologisch) beträgt am 15./16. Zyklustag 11,8 (7,0 - 23,9) mg HMG 20A.

Die durchschnittliche Gonadotropinausscheidung beträgt biologisch 6,0 mg HMG 20A für n = 22 untersuchte Tage im Zyklus, für n = 20 Tage (7. bis 26. Tag) beträgt der Durchschnittswert 6,4 mg HMG 20A. Die immunologische Gonadotropinbestimmung ergab keine meßbaren Werte. Sie lagen stets unter 4,4 bis 1,5 iE HCG Äqu. / 24-Stunden-Urin. Am 17./18. Zyklustag trat in der Gesamtöstrogenausscheidung ein Maximum auf von 4,4 γ , das mit der maximalen Gonadotropinausscheidung korrespondiert.

Die durchschnittliche Gesamtöstrogenausscheidung zwischen dem 7. bis 26. Zyklustag beträgt 29,3 γ , der durchschnittliche Östriolwert 15,0 γ für n = 20 untersuchte Tage im Zyklus. Die Kriterien sprechen für einen ovulatorischen Zyklus. (Siehe Tabelle 8, 10 Abb. 2)

Probandin B (E.Fr.)

Für sie wurde der 2. Zyklus nach Absetzen einer 1 1/2-jährigen 4 mg MTA + 50 γ AG Therapie als Normalzyklus angesehen.

Zyklusdauer: 28 / 4 Tage, BT biphasisch, 12 Tage hypertherm. Hormonbestimmungen vom 7. bis 28. Zyklustag.

Biologisch wurde am 17./18. Zyklustag ein Gonadotropinmaximum von 7,2 (5,8 bis 8,6) mg HMG 20A gefunden.

Immunologisch konnte nur ein meßbarer Wert am 21./22. Zyklustag mit 4,7 iE HCG Äqu. / 24-Stunden-Urin bestimmt werden, alle anderen Werte lagen unter 4,6 bis 10 iE HCG Äqu. /

24-Stunden-Urin. Sie sind für eine Beurteilung oder für einen Vergleich nicht brauchbar. Die durchschnittliche Gonadotro-

pinausscheidung beträgt biologisch 2,8 mg HMG 20A für n = 22 untersuchte Tage im Zyklus, für n = 20 Tage (7. bis 26. Tag) erhöht sich der Durchschnittswert auf 2,9 mg HMG 20A.

Am 17./18. Zyklustag trat auch bei den Gesamtöstrogenen ein Maximum von 39,3 γ auf, (Östriolfraction 18,6 γ), sodaß auch hier Gonadotropin- und Östrogenmaxima korrespondieren. Die durchschnittliche Gesamtöstrogenausscheidung beträgt 22,2 γ , die der Östriolfraction 12,2 γ für n = 22 untersuchte Tage im Zyklus, für n = 20 Tage (7. bis 26. Tag) beträgt der Mittelwert der Gesamtöstrogene 22,9 γ .

Auch hier sprechen die Ergebnisse für einen ovulatorischen Zyklus. (siehe Tabelle 8, 12 und Abb. 4)

Probandin C (K.M.)

Zyklusdauer 27 / bis 8 Tage, BT biphasisch, 11 Tage hypertherm. Hormonbestimmungen vom 7. bis 26. Zyklustag.

Am 11./12. Zyklustag ergab die biologische Gonadotropinbestimmung ein Maximum von 18,4 (13,0 bis 24,7) mg HMG 20A. Das Maximum bei der immunologischen Bestimmung wurde erst am 15./16. Zyklustag mit 29,3 iE HCG Aqu. / 24-Stunden-Urin gefunden. Im Durchschnitt lag die Gonadotropinausscheidung biologisch bei 7,1 mg HMG 20A für n = 20 untersuchte Tage. Die Gesamtöstrogene wiesen am 13./14. Zyklustag mit 41,5 μ ein erstes Maximum und am 19./20. Zyklustag ein zweites Maximum mit 51,2 μ auf. Die Werte der Östriolfraktion verhalten sich zeitlich in den Maxima analog.

Die durchschnittliche Gesamtöstrogenausscheidung im Zyklus beträgt 32,1 μ , in der Östriolfraktion 20,9 μ für n = 20 Tage. Der Zyklus ist nach Gonadotropin- und Östrogenausscheidung ovulatorisch. (Siehe Tabelle 6 und 20).

2. Die Gonadotropinausscheidung unter 1 mg ANTA und 50 μ AO vom 5. bis 24. Zyklustag

Probandin A (G.M.) registrierte keine Nebenerscheinungen unter der Medikation. Die Zyklusdauer betrug 27 Tage. Durch den thermogenetischen Effekt ist die BT bereits am 9. Zyklustag hypertherm. Aus dem BT-Verlauf kann der Zyklusablauf daher nicht beurteilt werden.

Der höchste biologische Gonadotropinwert betrug am 9./10. Zyklustag nur 4,6 mg HMG 20A, der Mittzyklusgipfel war nicht nachweisbar, in Zyklusmitte waren < 2,6 mg HMG 20A im 24-Stunden-Urin enthalten. Die durchschnittliche Gonadotropinausscheidung lag biologisch bei 2,8 mg HMG 20A für n = 20 Tage gegenüber 6,4 mg HMG 20A für n = 20 Tage (korrespondierend) im Normalzyklus.

Die immunologischen Bestimmungen ergaben keine meßbaren Werte (unter 6,4 bis 11,4 iE HCG Äqu./ 24-Stunden-Urin).

Am 9./10. Zyklustag lag auch der höchste Wert der Gesamtöstrogenausscheidung von 32,5 μ , in der Östriolfraction von 16,1 μ . In Zyklusmitte wurden am 13./14. Zyklustag nur 16,1 μ Gesamtöstrogene, davon 5,0 μ Östriol gefunden.

Die durchschnittliche Gesamtöstrogenausscheidung im Zyklus beträgt 15,2 μ , die der Östriolausscheidung 6,6 μ für n = 20 untersuchte Tage.

Die biologisch bestimmte Gonadotropinausscheidung ist also gegenüber dem Normzyklus im Maximum um >78 %, der Durchschnittswert um 56 % erniedrigt, der Mittzyklusgipfel fehlt. Die Gesamtöstrogenausscheidung ist im Durchschnitt um 48 %, im Maximum um 64 % niedriger als im Normzyklus.

(Siehe Tabelle 4 und 16, Abb. 8)

Probandin B (E.Fr.)

Die Hormonmedikation wurde ebenfalls gut vertragen. Die Länge des Zyklus betrug 27 Tage, eine Hyperthermie war wenig ausgeprägt (siehe Abb. 9).

Die Blutung dauerte 4 Tage. Die Gonadotropine wurden vom 7. bis 26. Zyklustag (n = 20) bestimmt. Am 11./12. Zyklustag trat biologisch ein Maximum um 7,5 (6,1 bis 9,8) mg HMG 20A auf!, dieses liegt 6 Tage vor dem des Normzyklus und 16 - 17 Tage vor der Menstruationsblutung. Korrespondierend zum Mittzyklusgipfel der Gonadotropine im unbehandelten Zyklus (17./18. Zyklustag) fand sich kein Gipfel unter der Hormonmedikation.

Die immunologischen Bestimmungen ergaben keine meßbaren Werte, sie lagen alle unter 7,0 bis 13,35 iE HCG Äqu./24-Stunden-Urin. Die Gesamtöstrogenausscheidung lag korrespondierend zum Gonadotropinmaximum am 11./12. Zyklustag mit 21,4 μ am höchsten. Dieses relativ niedrige Niveau wurde annähernd auch in Zyklusmitte und in der 2. Zyklushälfte beobachtet. Die durchschnittliche Gesamtöstrogenausscheidung betrug 13,1 μ , die der Östriolausscheidung 9,0 μ für n = 20 unter-

suchte Tage.

Die biologische Gonadotropinausscheidung ist somit unter der Hormonmedikation in Zyklusmitte, also im Bereich des ovulatorischen Gipfels um 57 % gehemmt, im Durchschnitt dagegen gegenüber dem Normzyklus nicht erniedrigt.

Die Gesamtöstrogenausscheidung ist im Durchschnitt um 43 % niedriger als im Normzyklus (siehe Tab. 5 und 17, Abb. 9). Diese Befunde, sowie auch in der 2. Zyklushälfte mit maximal 0,6 mg / 24-Stunden-Urin gemessene niedrige Pregnandiolwerte sprechen für eine Hemmung der Ovulation und für das Fehlen eines Corpus luteum.

Probandin C (K.M.)

Die Hormonmedikation wurde schlecht vertragen. Am 10., 15. und 16. Zyklustag traten Schmierblutungen auf "spotting". Außerdem gab die Probandin Völlegefühl, Übelkeit und starke Nervosität an.

Zyklusdauer 27 / 5 Tage, 13 Tage hypertherm.

Die BT zeigte sich von der Hormonmedikation nicht beeinflusst, sie entspricht einem biphasischen Zyklus.

Die Hormonausscheidung wurde vom 7. bis 26. Zyklustag untersucht. Wie im Normalzyklus fand sich biologisch am 11./12. Zyklustag ein Gonadotropinmaximum von 14,0 (11,8 bis 17,6) mg HMG 20A, das sich in der Höhe nicht signifikant vom Maximum im unbehandelten Zyklus unterscheidet.

Die durchschnittliche Gonadotropinausscheidung lag mit 5,1 mg HMG 20A / 24-Stunden-Urin um 2 mg niedriger als im Normalzyklus.

Immunologisch war ein Maximum mit 11,6 iE HCG Äqu./24-Stunden-Urin korrespondierend zum biologischen Maximum meßbar, diese Übereinstimmung bestand im Normzyklus nicht.

Der absolute Wert liegt dabei jedoch um mehr als die Hälfte niedriger als der immunologische Gipfel am 15./16. Zyklustag im unbehandelten Zyklus.

Im Gegensatz zu den Gonadotropinen betrug der höchste Gesamtöstrogenwert am 9./10. Zyklustag, also 48 Stunden vor dem

Gonadotropinmaximum nur 21,7 $\%$. Die Östriolausscheidung hatte zur gleichen Zeit ihr Maximum mit 16,7 $\%$.

Die durchschnittliche Gesamtöstrogenausscheidung betrug 13,4 $\%$, die der Östriolfraction 9,2 $\%$ für $n = 20$ untersuchte Tage.

Zusammenfassend war also der biologische Gonadotropinmittzyklusgipfel nicht beeinflusst, die Gesamtgonadotropinausscheidung im Mittel um 24 % reduziert, die immunologische Gonadotropinausscheidung allerdings ohne zeitliche Korrelation um 60 % im Maximalwert reduziert. Die durchschnittliche immunologische Ausscheidung war wegen vieler nicht meßbarer Werte auch im Normalzyklus nicht beurteilbar.

Die Gesamtöstrogenausscheidung war sowohl im Gipfel um 62 % eindeutig reduziert als auch im Durchschnitt um 55 %.

(Siehe Tabelle 6 und 18, Abb. 10)

3. Die Gonadotropinausscheidung unter 50 $\%$ ÄÖ vom 5. bis 19. und 50 ÄÖ + 2,5 mg ANTA vom 20. bis 24. Zyklustag

Bei Probandin A (G.M.) wurden die Gonadotropine vom 7. bis 26. Zyklustag bestimmt. Bis auf eine geringe Übelkeit um Zyklusmitte traten keine Nebenerscheinungen auf. Am 16. Zyklustag gab die Probandin einen Mittelschmerz an.

Zyklusdauer 27 / 4 Tage, 11 Tage hypertherm.

Am 15./16. Zyklustag trat ein Maximum der biologisch gemessenen Gonadotropinausscheidung mit 14,0 (8,4 bis 19,2) mg HMG 20A auf, was zeitlich mit dem Maximum im Normalzyklus übereinstimmt und sich von diesem nicht signifikant unterscheidet.

Die durchschnittliche Gonadotropinausscheidung lag biologisch für $n = 20$ Tage bei 5,3 mg HMG 20A im Vergleich zum Normzyklus 6,4 mg HMG 20A. Die immunologischen Gonadotropinbestimmungen ergaben nicht meßbare Werte unter 5,2 bis 11,4 iE HCG Äqu./24-Stunden-Urin wie im Normzyklus auch.

Die Gonadotropinausscheidung wurde somit durch die Hormonmedikation im Mittzyklusgipfel nicht beeinflusst, im Durchschnitt

mit - 17 % nicht eindeutig. Ob es sich um einen ovulatorischen Zyklus (Durchbruchsovulation) gehandelt hat, lässt sich nicht entscheiden. Östrogenwerte liegen nicht vor.

(Siehe Tabelle 7 und 19, Abb. 11)

4. Die Gonadotropinausscheidung; unter 2,5 mg ANTA + 50 $\times$ ÄÖ vom 5. bis 24. Zyklustag

Probandin A (G.M.): Dauer des Zyklus 20 / 4 Tage. Die BT war ab 9. Zyklustag hypertherm. Am 17./18. Zyklustag fand sich ein maximaler Gonadotropinwert in der biologischen Bestimmung von 12,7 (8,7 bis 21,8) mg HMG 20A. Die durchschnittliche Gonadotropinausscheidung im Zyklus lag biologisch für n = 20 Tage bei 5,8 mg HMG 20A.

Die immunologischen Bestimmungen ergaben nicht messbare Werte, sie lagen zwischen unter 0,3 bis 10,7 IE HCG Äqu./24-Stunden-Urin. Östrogenwerte liegen nicht vor.

Gegenüber dem unbehandelten Zyklus ist das Maximum um 48 Stunden vorverlegt. Der Gonadotropinwert, der mit dem Maximum im unbehandelten Zyklus korrespondiert, ist um 47 % verringert. Der Mittelwert der Gonadotropinausscheidung ist nicht signifikant verändert (- 9 %).

Da keine Östrogen- und Pregnanadiolmessungen in diesem Zyklus durchgeführt wurden, ist eine exakte Beurteilung des Zyklusablaufs nicht möglich. Die Gonadotropinausscheidung ist praktisch nicht beeinflusst, wenn man von dem 48 Stunden früheren Auftreten des Mittzykluskipfels absieht. Dieser Gipfel liegt am 13./14. Tag vor der folgenden Menstruation, also in einer Zeit, wo er auch in einem normalen Zyklus erwartet wird.

(Siehe Tabelle 3 und 15, Abb. 7)

5. Die Gonadotropinausscheidung unter 4 mg ANTA und 50 $\times$ ÄÖ vom 5. bis 24. Zyklustag

Bei Probandin A (G.M.) und Probandin B (E.Fr.) traten keine Nebenerscheinungen auf.

Probandin A: Zyklusdauer 28 / 5 Tage. Die BT war 21 Tage hy-

pertherm (thermogenetischer Effekt).

Gonadotropinbestimmungen erfolgten vom 7. bis 28. Zyklustag, Östrogenwerte liegen vom 7. bis 26. Zyklustag vor.

Die Gonadotropinausscheidung betrug biologisch maximal am 7./8. und 9./10. Zyklustag 6,6 mg HMG 20A und nahm dann stetig bis auf nicht meßbare Werte ab. Ein Mittzyklusgipfel fehlte. Die durchschnittliche Gonadotropinausscheidung betrug biologisch 3,15 mg HMG 20A, wobei in diese Berechnung die mit unter 2,6 mg HMG 20A nicht meßbaren Werte als $1,3 \pm 1,3$ mg HMG 20A aufgenommen wurden.

Im Bereich des Mittzyklusgipfels sind die Gonadotropinwerte unter der Behandlung um 78 % niedriger.

Die Hemmung der mittleren Gonadotropinausscheidung gegenüber dem Normzyklus beträgt für $n = 20$ Tage 51 %.

Die immunologischen Bestimmungen ergaben nicht meßbare Werte. Die Gesamtöstrogenausscheidung beträgt am 7./8. Zyklustag noch 28,98, die der Ostriolfraction 10,88. Die Werte fallen danach analog zu den Gonadotropinwerten im Zyklusverlauf stetig ab, ein Mittzyklusgipfel ist auch hier nicht erkennbar. Die Werte sind im Mittzyklusgipfel um 77 %, im Durchschnitt um 74 % reduziert.

Bis auf eine restliche Basisausscheidung von Hormonen ist dieser Zyklus eindeutig gehemmt.

(Siehe Tab. 1 und 13, Abb. 5).

Probandin B (E.Fr.) hatte eine Zyklusdauer von 28 Tagen, mit 23 Tagen hyperthermer BT.

Die Gonadotropine wurden vom 7. bis 28. Zyklustag bestimmt. Von den gleichen Urinen liegen die Östrogenwerte vor.

Am 7./8. Zyklustag war die Gonadotropinausscheidung biologisch mit 4,5 mg HMG 20A am höchsten und sank bereits 2 Tage danach auf nicht meßbare Werte ab. Mit unter 2,6 mg HMG 20A nicht meßbare Werte wurden als $1,3 \pm 1,3$ mg HMG 20A in die Berechnung aufgenommen. Rechnerisch kommt man dann auf eine Gonadotropinausscheidung im Mittel von 1,8 mg HMG 20A / 24-Stunden-Urin für $n = 22$ Tage, die gegenüber dem schon sehr

niedrigen Normalzykluswert von 2,8 mg HMG 20A (n = 22 Tage) um 36 % reduziert ist.

Immunologisch konnte nur am 7./8. Zyklustag ein Wert mit 6,9 iE HCG Äqu./ 24-Stunden-Urin bestimmt werden, danach bestand keine messbare Ausscheidung mehr.

Die Gesamtöstrogenausscheidung erreichte wohl mit 27,5 μ am 13./14. Zyklustag einen Maximalwert, dieser war gegenüber dem ovulatorischen Gipfel im Normzyklus am 17./18. Zyklustag jedoch um 28 % verringert. Die Reduktion betrug am 15./16. Tag bereits 42 % und am 17./18. Zyklustag 61 %.

Die durchschnittliche Gesamtöstrogenausscheidung ist mit 15,6 μ (Östriolfraction 10,6 μ) gegenüber dem unbehandelten Zyklus um 30 % reduziert, wobei bemerkt werden muß, daß der Mittelwert im unbehandelten Zyklus mit 22,9 μ ausnahmsweise niedrig liegt.

(Siehe Tabelle 2 und 14, Abb. 6).

D. DIE GONADOTROPINAUSSCHIEDUNG IM HARN IN DEN ZYKLEN NACH ABSETZEN EINER 1 1/2- UND 1-JÄHRIGEN ZYKLISCHEN EINNAHME VON 4 mg ANTA + 50 μ ÄÖ (ANOVLAR), JEWEILS VOM 5. BIS 24. ZYKLUSTAG!

Probandin A (G.M.) hatte 1 Jahr lang zyklisch zum Zwecke der Kontrazeption 4 mg ANTA + 50 μ ÄÖ genommen, Probandin B (E.Fr.) in gleicher Weise 1 1/2 Jahre lang. Von Probandin A konnten der 2. und 3. Spontanzyklus nach Absetzen des "Ovulationshemmers" hinsichtlich der Gonadotropinausscheidung untersucht werden, von Probandin B der 1. und 2. Spontanzyklus.

Probandin A: 2. Zyklus nach Absetzen einer 1-jährigen 4 mg ANTA + 50 μ ÄÖ-Therapie, Zyklusdauer 28 / 4 Tage. Die Aufwachttemperatur wurde sublingual gemessen, die Messungen waren ungenau und konnten daher nicht verwertet werden.

Die Gonadotropinausscheidung wurde vom 7. bis 26. Zyklustag bestimmt. Am 17./18. Zyklustag konnte biologisch ein Maximum von 24,2 (19,0 bis 32,0) mg HMG 20A festgestellt werden.

Immunologisch fand sich in der gleichen Zeit ein Maximum von

16,6 iE HCG Äqu. / 24-Stunden-Urin. Bis zum 10. und nach dem 18. Zyklustag waren immunologisch keine Gonadotropine nachweisbar. (Werte unter 4,6 bis 10 iE HCG Äqu. / 24-Stunden-Urin).

Die durchschnittliche Gonadotropinausscheidung betrug biologisch 9,24 mg HMG 20A.

Östrogene wurden von diesem Zyklus nicht bestimmt.

Aufgrund der Höhe und des zeitlichen Auftretens des Gonadotropingipfels (12 Tage vor der Menstruation) kann ein ovulatorischer Zyklus angenommen werden.

(Siehe Tabelle 8 und 9).

Probandin A: 3. Spontanzyklus. Dieser Zyklus ist ausführlich auf Seite 34, Abb. 2 und Tabelle 8 + 10 dargestellt. Auch dieser Zyklus ist nach den Kriterien der biologischen Gonadotropinwerte und zusätzlich der Basaltemperatur und der Östrogenbestimmungen als ovulatorisch anzusehen.

Probandin B: Der erste unbehandelte Zyklus nach 1 1/2-jähriger "Anovlar"-Einnahme war mit 39 Tagen im Vergleich zu den Zyklen vor der Tabletteneinnahme (28 Tage) verlängert. Die BT war erst ab 33. Zyklustag hypertherm, die hypertherme Phase war auf 7 Tage verkürzt, die Blutung dauerte 3 Tage.

Die Gonadotropinausscheidung wurde vom 9. bis 38. Zyklustag bestimmt. Biologisch konnte am 29./30. Zyklustag ein Gonadotropinmaximum von 6,1 (2,3 bis 9,1) mg HMG 20A gemessen werden. Immunologisch wurden nur am 29./30. und 31./32. Zyklustag mit 8 und 4,8 iE HCG Äqu. / 24-Stunden-Urin meßbare Werte gefunden.

Durch die Urinmenge und Bestimmungsmethode bedingt, konnte für die übrige Zeit nur festgestellt werden, daß die Werte unter 10 iE HCG Äqu. / 24-Stunden-Urin liegen.

Die immunologischen Untersuchungen sind in diesem Zyklus somit ohne Aussagekraft. Östrogenwerte liegen nicht vor. Im Zusammenhang mit der BT lassen die biologischen Gonadotropinwerte vermuten, daß in diesem 1. Zyklus nach 1 1/2-jähriger Hemmung eine auf 30 Tage verlängerte Follikelphase und eine

auf 9 Tage verkürzte Corpus-luteum-Phase vorliegt bei einer Verlängerung der Gesamtzyklusdauer auf 39 Tage.

Eine verspätete Ovulation dürfte nach den vorliegenden Kriterien stattgefunden haben.

(Siehe Tabelle 8 + 11, Abb. 3)

Probandin B (E.Fr.) 2. Spontanzyklus nach 1 1/2-jähriger Hemmung. Dieser Zyklus ist auf Seite 35, Acc. 4 und Tabelle 8 + 12 ausführlich dargestellt.

Nach BT, biologischen Gonadotropinwerten und Östrogenwerten kann dieser 28 Tage lange Zyklus als ovulatorisch und damit normal angesehen werden.

Die Follikelphase kann mit 16 Tagen und die Corpus-Luteum-Phase mit 12 Tage angenommen werden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, das bei Probandin A bereits der 2. Zyklus nach Absetzen einer 1-jährigen zyklischen ovulationshemmenden Behandlung normal lang war und eine für einen ovulatorischen Zyklus sprechende Gonadotropinausscheidung aufwies. Der 3. Zyklus war aufgrund von 3 Kriterien (BT, Gonadotropin- und Östrogenwerte) ovulatorisch und normal lang. Ferner, das bei Probandin B der 1. Zyklus nach 1 1/2-jährigen zyklischer Ovulationshemmung eine verlängerte Follikelphase hatte, mutmaßlich ovulatorisch war, die Corpus-Luteum-Phase jedoch mit nur 9 Tagen insuffizient blieb. Der 2. Absetzzyklus erwies sich als ovulatorisch und normal lang.

VII. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Mit biologischer und immunologischer Methodik wurden die Harn-gonadotropine zunächst in normalen unbeeinflussten Zyklen, danach unter Östrogen-Gestagen-Kombinationspräparaten mit unterschiedlich dosiertem Gestagenanteil vom 5. bis 24. Zyklustag bei 3 Frauen bestimmt. Zwei von den Frauen hatten 1 und 1 1/2 Jahre lang zyklisch als Ovulationshemmer 4 mg ANTA + 50 μ g ÖÖ genommen. Es konnten der erste und zweite Zyklus nach 1 1/2 jähriger und der zweite und dritte Zyklus nach 1-jähriger zyklischer 4 mg ANTA + 50 μ g ÖÖ-Therapie auf die Reversibilität der Hemmung untersucht werden.

Zur Zyklusbeurteilung dienten zusätzlich die BT und in der Mehrzahl der Zyklen auch die Östrogenausscheidung, die parallel von den gleichen Sammelurinen nach der Methode von Brown, v. Bergmann, Runau und einer technischen Assistentin bestimmt wurden. Sie wurden als Gesamtöstrogene /24-Stunden-Urin angegeben und graphisch dargestellt.

Die Gonadotropine wurden in 48 Stunden Sammelurinportionen nach der Methode von Lorraine und Brown extrahiert und mit Tricalciumphosphat nach Butt und Crooke gereinigt, sodann im Maus-Uterus-Test 2 + 2 Dosen 4 Tiere pro Dosis getestet. Für Extrakte, die nur mit 2 Tieren pro Dosis getestet wurden, sind keine Vertrauensgrenzen angegeben.

Ein Wiederfindungsversuch mit dieser Methodik ergab eine Wiederfindungsrate von 85 (75 bis 96) %, was mit anderen Untersuchern - Geiger, Gordes, Hoppe, Kasper - übereinstimmt.

Es wurden nur die tatsächlich gefundenen Werte ohne Berücksichtigung der Verlustrate angegeben.

Die untere Grenze der biologischen Nachweisbarkeit gonadotroper Aktivität aus einem 48-Stunden-Sammelurin beträgt 2,6 mg HMG 20A. Werte unter 2,6 mg HMG 20A wurden für die Berechnung der durchschnittlichen Gonadotropinausscheidung mit $1,3 \pm 1,3$

mg HMG 20A eingesetzt.

Parallel zu der biologischen Bestimmung der Harngonadotropine wurden diese immunologisch nach der von W i d e und G e m z e l l angegebenen semiquantitativen Methode bestimmt.

Die Extrakte wurden durch fraktionierte Alkoholfällung mit pH-Verschiebung gewonnen.

Die LH-Aktivität soll durch die immunologische Kreuzreaktion zwischen Choriongonadotropin-Antiserum und hypophysärem LH erfaßt werden können (W i d e und G e m z e l l). Sie wird in HCG Äqu. / 24-Stunden-Urin angegeben.

Die Wiederfindungsrate für die immunologische Gonadotropinbestimmung nach der hier angewandten Methode wird von D a u m e , K a i s e r und G e i g e r mit ca. 96 % angegeben. Die Empfindlichkeit der Methode beträgt 4,0 iE HCG Äqu. / 1 Urin.

Von allen 3 Probandinnen liegt ein nach BT, Gonadotropin- und Östrogenausscheidung ovulatorischer Zyklus vor, der jeweils als Vergleichszyklus für die Zyklen unter Östrogen-Gestagen-Behandlung dient.

In 2 unbehandelten Zyklen fanden sich dabei die biologisch gemessene Gonadotropinmaxima korrespondierend mit dem Anstieg der BT, in einem Fall lag das Maximum 48 Stunden vorher. In 2 Zyklen sind die Gonadotropingipfel eindeutig nur auf eine 48-Stunden-Urinportion beschränkt, in einem Fall erstrecken sich die hohen Mittzykluswerte über 3 x 48-Stunden-Urinportionen, so daß in Zyklusmitte ein gegenüber den anderen Zyklastagen hohes Gonadotropinplateau entstand.

Die ovulatorischen Gonadotropingipfel liegen in den 3 unbehandelten Zyklen zwischen 7,2 und 13,4 mg HMG 20A, im Durchschnitt bei 12,7 mg HMG 20A.

Immunologisch konnten in 2 Zyklen keine Gonadotropine gefunden werden. Die Werte lagen alle unter 4,4 bis 11,8 iE HCG Äqu. / 24-Stunden-Urin. In einem Fall wurde der immunologische Gonadotropingipfel 96 Stunden nach dem biologischen Gipfel gefunden, aber deutlich höher als dieser.

Die biologischen und immunologischen Gonadotropinmaxima korrespondieren also in keinem der drei Normalzyklen. Die immunologischen Bestimmungen ergaben somit keine brauchbaren Resultate. Die Ursache dieser Ergebnisse, die im Gegensatz zu früheren unter gleichen Bedingungen erhaltenen immunologischen Gonadotropinwerten im Zyklus stehen, ist unklar. Sie kann nicht weiter abgeklärt werden, da keine Extrakte zur weiteren Überprüfung zur Verfügung stehen.

Die Östrogenmaxima in den Normalzyklen stimmen zeitlich mit den Gonadotropinmaxima in zwei Fällen überein, in einem Zyklus liegt das Östrogenmaximum 96 Stunden nach dem biologischen Gonadotropinmaximum.

Die Korrelation der biologischen Gonadotropinmaxima mit der Basaltemperatur stimmt mit den Ergebnissen der Untersuchungen von Kaiser, Mackert und Keyl (50) überein. Sie fanden in 5 Zyklen Gonadotropin- und Östrogenmaxima unmittelbar vor oder 48 Stunden vor dem Anstieg der BT. Die gonadotrope Aktivität um Zyklusmitte betrug im Mittel 17 (9,7 - 31,6) mg HMG 20A, die durchschnittliche Gonadotropinausscheidung 8 (5 - 17) mg HMG 20A. Brown und Mitarbeiter fanden Gonadotropinmaxima bei 7 von 9 Probandinnen zwischen 13 und 40 mg HMG 20A um die Zyklusmitte. Die Gonadotropinmaxima in den vorliegenden Untersuchungen liegen also in der Höhe, wie bei den Untersuchungen von Kaiser, Mackert und Keyl und Brown und Mitarbeitern.

Von Schmidt-Elmendorf wird der ovulatorische Durchschnittswert der Gonadotropine mit nur 6,7 mg HMG 20A angegeben. Unter Östrogen-Gestagen-Behandlung mit 1 mg ANTA + 50 γ ÄÖ wurde in 3 Zyklen die Gonadotropin-, Östrogenausscheidung bestimmt und die BT gemessen.

2 Zyklen waren in der biologischen Gonadotropinausscheidung im Maximum um 78 % und um 57 %, der erste Zyklus davon auch im Durchschnitt um 56 % gegenüber dem Normzyklus gehemmt, während die durchschnittliche Gonadotropinausscheidung im zweiten nicht verändert war.

In beiden Zyklen war die Gesamtöstrogenausscheidung um 48 % und 43 % niedriger als im Normzyklus.

In einem Zyklus unter oben genannter Dosierung war in der Gonadotropinausscheidung im Maximum, als auch im Durchschnitt keine signifikante Hemmung zu verzeichnen, d.h. sowohl Maximum als auch Durchschnittswert liegen wohl um 24 und 25 % niedriger als im Normzyklus, jedoch überschneiden sich die Vertrauensgrenzen der Werte s. Abb. 10, so daß die Differenz nicht statistisch gesichert werden konnte.

Die Gesamtöstrogenausscheidung war in diesem Zyklus um 41 % niedriger als im Normzyklus.

Aus diesen Ergebnissen ist zu entnehmen, daß unter 1 mg ANTA + 50 γ ÄÖ sowohl eine Hemmung der Gonadotropinausscheidung möglich ist, die nach den gültigen Vorstellungen die Hemmung der Östrogenausscheidung erklärt, als auch eine alleinige Hemmung der Östrogenausscheidung ohne sichere Beeinflussung der Gonadotropinausscheidung.

Ein Zyklus konnte unter Einnahme von 2,5 mg ANTA + 50 γ ÄÖ hinsichtlich der Gonadotropinausscheidung beurteilt werden. Hier trat 48 Stunden vor dem biologischen Gonadotropinmaximum im Normzyklus (11,8 mg) ein Maximum der Gonadotropinausscheidung von 12,7 mg HMG 20A auf.

Die Gonadotropine waren im Vergleich zum Normzyklus im Durchschnitt nur um 9 % niedriger. Die immunologischen Gonadotropinbestimmungen ergaben keine meßbaren Werte und konnten daher nicht zur Berechnung der Hemmung herangezogen werden.

Die Östrogene wurden von diesem Zyklus nicht bestimmt. Die nicht gehemmte Gonadotropinausscheidung laßt verglichen mit den unter 1 mg ANTA + 50 γ ÄÖ erhaltenen Resultaten nicht unbedingt auf einen ovulatorischen Charakter des Zyklus schließen.

T a y m o r und K l i b a n o f f (84), die 6 Frauen über 2 Zyklen mit 2,5 mg ANTA behandelten, konnten während des ersten und zweiten Zyklus bei zwei Fällen aufgrund der Pregnanidiolausscheidung in der 1. und 2. Zyklushälfte eine Ovulation annehmen.

In 2 Zyklen konnte unter Einnahme von "Anovlar" (4 mg ANTA + 50 μ $\ddot{A}$ O) die Gonadotropin- und Östrogenausscheidung untersucht werden. Beide Zyklen zeigten eine deutliche Hemmung der Gonadotropin- und Östrogenausscheidung im Vergleich zum Normzyklus. Die biologischen Gonadotropinausscheidungen waren im Maximum um 64 und 78 %, im Durchschnitt um 36 und 51 % gehemmt. Die Gesamtöstrogenausscheidung war in dem einen Zyklus um 30 %, in dem anderen um 74 % niedriger als im Normzyklus. Die Östrogenmaxima waren um 61 und 77 % geringer. Bei dieser Übereinstimmung darf man auf eine Hemmung der Ovulation schließen.

Auch Marti und Gloor u.a. (66) konnten eine verminderte Gonadotropin- und Östrogenausscheidung unter "Anovlar"-Therapie im Vergleich zum Normzyklus feststellen. Mears und Grant (69) konnten eine 100 %ige Ovulationshemmung unter gleicher Medikation bei 153 Frauen in 630 Zyklen im klinischen Versuch feststellen.

Kirchhoff und Haller (53), Haller (36) haben bei 2433 Patientinnen, die sie über 14038 Zyklen mit 4mg ANTA + 50 μ $\ddot{A}$ O behandelten bei richtiger Einnahme eine 100 %ige antikonzeptionelle Wirkung feststellen können. Die 7 Schwangerschaften = 0,3 %, die unter der "Anovlar"-Therapie auftraten, waren auf eine unregelmäßige Tabletteneinnahme zurückzuführen.

Pincus und zu gleicher Zeit Kaiser entwickelten zum Zwecke der Konzeptionsverhütung eine Behandlung mit Östrogenen vom 5. bis zum 24. Zyklustag, wobei nur vom 20. bis 24. Tag zusätzlich Gestagene verabfolgt werden (Sequentialmethode).

Unter dieser Medikation mit einer Dosis von 50 $\ddot{A}$ O (+ 2,5 mg ANTA) konnte ein Zyklus hinsichtlich der Gonadotropinausscheidung untersucht werden.

Es trat zur gleichen Zeit wie im Normzyklus ein Gonadotropinmaximum auf, das sogar um 3,2 mg HMG 20A höher lag.

Im Durchschnitt war die Gonadotropinausscheidung nur um 17 % geringer als im Normzyklus.

Die BT zeigte einen biphasischen Verlauf. Es kann also aufgrund des BT-Verlaufs und der Gonadotropinausscheidung keine Zyklusbeeinflussung durch die Medikation angenommen werden. Diese Befunde sprechen für einen ovulatorischen Zyklusverlauf. Da die BT in diesem Fall nicht durch die Gestagenmedikation um die Zeit der Ovulation beeinflusst wurde, kann sie für die Beurteilung des Zyklus verwertet werden.

Bei Verabreichung von 60 γ $\ddot{A}\ddot{O}$ fanden Buchholz und Mitarbeiter dagegen die Gonadotropin- und Östrogenausscheidung gehemmt.

Gual und Mitarbeiter (34) beurteilten den Einfluß von 50 γ $\ddot{A}\ddot{O}$ anhand der Pregnanoliolausscheidung. Unter 75 Zyklen war 2mal sicher, in einem 3. Fall fraglich die Pregnanoliolausscheidung typisch für einen ovulatorischen Zyklus. Mit einer Wahrscheinlichkeit von $>5\%$ sind danach 0,4 bis 12 % Ovulationen unter dieser Medikation zu erwarten.

Goldzieher u.a. (32, 33) berichteten, daß es in 6 Fällen von 185 untersuchten Zyklen unter 50 γ $\ddot{A}\ddot{O}$ vom 5. bis 24. und 2,5 mg ANTA vom 20. bis 24. Zyklustag bei vorschriftsmäßiger Tabletteneinnahme zu Schwangerschaften kam. Die Sequentialtherapie soll nach Ufer (87) bezüglich der Nebenwirkungen Vorteile bieten, es kommt jedoch nicht zu atrophischen Veränderungen des Endometriums, ebenfalls nicht zur biochemisch-physikalischen Veränderungen am Cervixschleimpfropf. Diese zusätzliche Sicherung der Konzeptionerschwerung fällt bei der Sequentialtherapie weg.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß unter 4 mg ANTA + 50 γ $\ddot{A}\ddot{O}$ in 2 von 2 untersuchten Fällen eine Hemmung der Ovulation aufgrund der erniedrigten Gonadotropin- und Östrogenausscheidung sowohl im Maximum als auch im Durchschnitt angenommen werden kann.

Unter Behandlung mit 2,5 mg ANTA + 50 γ $\ddot{A}\ddot{O}$ war ein ovulatorisches nicht gehemmtes Gonadotropinmaximum nachweisbar. Im Durchschnitt war die biologische Gonadotropinausscheidung nur um 9 % gehemmt.

Da die BT durch den thermogenetischen Effekt nicht zur Zyklusbeurteilung herangezogen werden kann und die Östrogenwerte fehlen, kann nur festgestellt werden, daß bei dieser Dosierung die Gesamtgonadotropine unbeeinflusst bleiben können.

Diese Dosis kann also offenbar, wie aus anderen Untersuchungen ersichtlich, individuell unterschiedlich zu einer Hemmung der Gonadotropine führen, die mit einer Hemmung der Östrogene einhergeht oder nur zu einer Hemmung der Östrogene ohne sichere Beeinflussung der Gesamtgonadotropine.

Von den 3 Zyklen unter 1 mg ANTA + 50 μ g ÖÖ kam es in 2 Fällen zu einer deutlichen Verminderung der Gonadotropin- und Östrogenausscheidung in den Maxima und mit Ausnahme der Gonadotropine im 1. Zyklus auch im Durchschnitt.

In einem Fall war die Gonadotropinausscheidung nicht vermindert, jedoch die Gesamtöstrogenausscheidung um 55 % niedriger als im Normzyklus, im Mittzykluspipfel sogar um 62 %.

An dieser Stelle muß betont werden, daß die durchgeführte Bestimmung der Gesamtgonadotropine keine Rückschlüsse auf die FSH : LH-Relation zuläßt und es als durchaus möglich erscheint, daß in den Zyklen, in denen die Gesamtgonadotropine unbeeinflusst, die Östrogene jedoch gehemmt waren, eine Verschiebung der FSH : LH-Relation stattgefunden haben kann.

Die Tendenz einer Dosisabhängigkeit der hormonellen Zyklusbeeinflussung scheint ebenso gegeben, wie eine individuell unterschiedliche Beeinflußbarkeit des Zyklus. Es muß an einer größeren Anzahl (nach G u a l und Mitarbeiter (34) 20 000) Zyklen untersucht werden, inwieweit der Einfluß dieser Präparate auf die Gonadotropinsekretion des HVL bzw. Ovulationshemmung obligat ist, wenn die Aussage eine Präzision von ± 10 % haben soll. Über die Möglichkeit eines direkten Einflusses dieser Medikamente auf die Ovarien kann aufgrund der gewählten Versuchsanordnung nicht Stellung genommen werden. Es kann jedoch aufgrund der gewonnenen Ergebnisse die Hemmung der Hypophysenfunktion beurteilt werden.

Die von L o r a i n e und Mitarbeitern veröffentlichten

Fälle, bei denen behandelte und unbehandelte Zyklen eine gleiche Gonadotropinausscheidung mit einem Gonadotropingipfel ergeben, sprechen gegen eine Hypophysenblockade (60, 62, 63). Dagegen stehen die hier gewonnenen Untersuchungsergebnisse mit den Ergebnissen von **B u c h h o l z** und Mitarbeitern in Einklang. Auch sie fanden nach Gabe von Gestagenen eine Verminderung der Gesamtgonadotropinaktivität bei vielen Frauen (78, 77, 63).

In der vorliegenden Arbeit konnte außerdem an vier Zyklen die Reversibilität der Ovulationshemmung nachgewiesen werden. Der erste behandlungsfreie Zyklus nach 1 1/2-jähriger zyklischer Anovulartherapie war mit 39 Tagen verlängert, die hypertherme Phase betrug nur 6 Tage und war somit stark verkürzt. Ein Gonadotropinmaximum trat biologisch und immunologisch verspätet am 29./30. Zyklustag auf. Es darf aufgrund dieser Kriterien eine verspätete Ovulation angenommen werden.

Der 2. Zyklus nach 1 1/2-jähriger, sowie auch nach 1-jähriger und der 3. Zyklus nach 1-jähriger "Anovlar"-Therapie hatten eine normale Dauer von 26 Tagen mit einer normalen Länge der hyperthermen Phase. Sie zeigten sowohl ovulatorische Gonadotropinmaxima, als auch normale Ostrogenausscheidungen.

Diese Ergebnisse stehen mit den Untersuchungen von **H a l l e r** (37, 38) in Einklang. Er konnte ebenfalls an 3 Beispielen nach 1 1/2-jähriger "Anovlar"-Einnahme im ersten behandlungsfreien Zyklus aufgrund der BT und der Gonadotropinausscheidung eine Ovulation annehmen. Der erste behandlungsfreie Zyklus war dabei ebenfalls wesentlich verlängert, die Ovulation trat zeitlich verzögert auf.

S h e a r m a n (82) wies die Reversibilität der Ovulationshemmung durch Kontrazeptiva nach, durch eine eingetretene Schwangerschaft im ersten behandlungsfreien Zyklus nach 12-monatiger Behandlung. Ein promptes Eintreten von Graviditäten nach Absetzen einer antikonzeptionellen Behandlung mit Hormonpräparaten ergeben auch die zahlreichen Statistiken von **E c k s t e i n** und Mitarbeitern (27), **P i n c u s** (70),

R i c e - W r a y und Mitarbeiter (73, 72) und S a t -
t e r t h w a i t e , G a m b l e (75).

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Von 3 Frauen wurden die Harngonadotropine nach der Methode von L o r a i n e und B r o w n biologisch und nach der Methode von W i d e und G e m z e l l immunologisch in verschiedenen Zyklen zuerst ohne Behandlung, danach unter Medikation von Östrogen-Gestagen-Präparaten vom 5. bis 24. Zyklustag mit unterschiedlicher Dosierung des Gestagenanteils bestimmt.

Zur Beurteilung der Zyklen dienten außerdem die BT und die Gesamtöstrogenausscheidungen, die von anderen Untersuchern parallel nach der Methode von B r o w n aus den gleichen 48-Stunden-Sammelurinportionen bestimmt wurden.

Von jeder Probandin wurde ein normaler ovulatorischer Zyklus als Vergleichszyklus für die Beurteilung der Zyklen unter der Hormonmedikation herangezogen.

3 Zyklen wurden unter 1 mg ANTA + 50 ♂ ÄÖ vom 5. bis 24. Zyklustag untersucht. In 2 Zyklen war die Gesamtgonadotropinausscheidung im Maximum um 78 % und 57 %, in einem auch im Durchschnitt um 56 % gegenüber dem Vergleichszyklus gehemmt. Im 3. Zyklus war die Gonadotropinausscheidung weder im Maximum, noch im Durchschnitt signifikant gehemmt.

Die Gesamtöstrogenausscheidung war dagegen in allen 3 Zyklen um 41 %, 43 % und 48 % erniedrigt.

In einem Zyklus unter 2,5 mg ANTA + 50 ♂ ÄÖ war die Gonadotropinausscheidung nicht gehemmt.

In einem Zyklus unter 50 ♂ ÄÖ vom 5. bis 24. Zyklustag und 2,5 mg ANTA vom 20. bis 24. Zyklustag (Sequentialtherapie) waren Gonadotropinausscheidung und BT gegenüber dem Normzyklus nicht verändert.

Unter 4 mg ANTA + 50 ÄÖ vom 5. bis 24. Zyklustag waren 2 von 2 Zyklen sowohl nach der Gesamtgonadotropinausscheidung im Maximum und im Durchschnitt, als auch nach der Gesamtöstrogenausscheidung signifikant gehemmt. Die Reversibilität der Hemmung konnte in 4 Spontanzyklen im 1. und 2. nach 1 1/2-jähriger und im 2. und 3. nach 1-jähriger zyklischer Medika-

tion von 4 mg ANTA + 50 µg Ö nachgewiesen werden.

Der 1. Spontanzyklus nach 1 1/2-jähriger zyklischer 4mg ANTA + 50µg Ö Medikation war auf 39 Tage verlängert, es kann nach Gesamtgonadotropinausscheidung und BT-Kurven-Verlauf eine verspätete Ovulation und eine Verkürzung der CLH-Phase auf 6 Tage angenommen werden. Die anderen 3 Spontanzyklen zeigten nach den untersuchten Kriterien ovulatorische und normal lange Verläufe.

Zyklus- tag	Gesamtgonadotropine		Gültigkeitskriterien			Präzision		Vertrauens - grenzen	Gesamt- östrogene ng
	biologisch HMG 20A/24 ^h	immunol. HÄAg ₂₄ /24 ^h	Regress. R	Parall. t ₁	01. Wirk. t ₂	λ	L		
7/8.	< 2,6	< 10,4							19,7
9/10.	4,6	< 5,4							32,5
11/12.	< 2,6	< 11,4							31,1
13/14.	< 2,6	< 9,8							16,1
15/16.	< 2,6	< 7,4							8,9
17/18.	3,1	< 6,9							9,0
19/20.	3,3	< 8,3							11,5
21/22.	3,4	< 7,2							8,8
23/24.	4,2	< 7,6							8,4
25/26.	4,2	< 7,2							5,8

Tab. Nr. 16 Prob. A G.M. Gesamtgonadotropin - und Gesamtöstrogenausscheidung

unter 50 r ÄÖ + 1mg ANTA vom 5. bis zum 24. Zyklustag

Zyklus	Dauer	hyperth.	Bestimmung von - bis	Gona.		Grad der Hemmung.	Gona.		Grad der Hemmung.	Gesamt - östrogene		Grad der Hemmung.
				Maximum biol.	imm.		Durchschn. biol.	imm.		Max.	Ø	
Normal - zyklus	28 Tage	13 Tage	7. bis 28. Ztg.	11,8 am	<11,8 am		6,4 n=20			44,4 am	29,3	
				15/16.	7./8.					15/16.		
Zyklus unter 50 µg + 1mg ANTA vom 5.-24. Ztg.	27 Tage	19 Tage	7. bis 26. Ztg.	4,6 am	<11,4 keine meßb. in Werte Zyklus- mitte < 2,6	um >78%	2,8 n=20		um 56%	32,5 am 9/10.	15,2 n=20	im Max. um 64%
										16,1 am 13/14.		im Ø um 48%

Tab. Nr. 4 Prob. A G.M. Zyklus unter 50 µg + 1 mg ANTA vom 5. bis zum 24. Zyklustag
im Vergleich zum Normalzyklus

Zyklus- tag	Gesamtgonadotropine		Gültigkeitskriterien				Präzision		Vertrauens - grenzen	Gesamt - östrogene
	biologisch HMG 20A/24h	immunol. IEÄqu/24h	Regress. g	Parall. t ₁	Gl.Wirk. t ₂		μ	L		
7/8.	2,7	< 9,4								8,3
9/10.	3,1	< 9,8								6,4
11/12.	7,5	< 10,7	0,0859	0,3532	3,9093	0,0809	12,355		9,79 - 6,13	21,4
13/14	< 2,6	< 9,0								10,9
15/16.	< 2,6	< 10,15								20,7
17/18.	3,1	< 7,2	0,0530	6,0857	7,1045	0,0636	15,72		2,44 - 3,39	11,9
19/20.	< 2,6	< 10,0								20,7
21/22.	3,5	< 7,0								8,9
23/24.	3,2	< 8,6								11,6
25/26.	3,3	< 13,3								10,0

Tab. Nr. 17 Prob. B E. Fr.

Gesamtgonadotropin - und Gesamtöstrogenauscheidung
unter 50 IE ÄÖ + 1mg ANTA vom 5. bis zum 24. Zyklustag

Zyklus	Dauer	hyperth. Phase	Bestimmung von-bis	Gona. Maximum		Grad der Hemmung.	Gona. Durchschn.		Grad der Hemmung.	Gesamt - östrogene		Grad der Hemmung.
				biol.	imm.		biol.	imm.		Max.	Ø	
Normal - zyklus	28 Tage	12 Tage	7. bis 28. Ztg.	7,2 am	4,7 am		2,9 n=20			39,3 am n=20	22,9	
				17/18. 21/22.						17/18		
Zyklus unter 50 μ ÄÖ + 1mg ANTA vom 5.-24. Ztg.	27 Tage	17 Tage	7. bis 26. Ztg.	3,1 am 17/18. 7,5 am 11/12.	<13,3 nicht meßb. Werte	um 57 %	3,0 n=20		nicht am gehemmt 17/18.	11,9 am 21,4 11/12.	13,1 n=20	um 43 % im Ø 69 % im Max.

Tab. Nr. 5 Prob. B. E.Fr. Zyklus unter 50 μ ÄÖ + 1mg ANTA vom 5. bis zum 24. Zyklustag
im Vergleich zum Normalzyklus

Zyklus- tag	Gesamtgonadotropine		Gültigkeitskriterien				Präzision		Vertrauens - Grenzen	Gesamt - östrogene
	biologisch HMG 20A/24 ^h	immunol. IEÄqu/24 ^h	Regress. g	Parall. t ₁	Gl.Wirk. t ₂	u	L			
7/8.	2,9	<10,8								13,8
9/10.	7,2	11,8	0,1874	0,5186	2,4	0,1195	8,3643	11,4 - 5,05	23,2	
11/12.	18,4	7,1	0,1716	-0,7117	-0,9440	0,1144	8,7403	24,7 - 13,0	40,3	
13/14.	9,6	24,0	0,2008	-0,8541	-0,5304	0,1272	7,858	13,4 - 6,65	41,5	
15/16	9,0	29,3	0,1047	-1,5944	-1,3245	0,0932	10,731	11,3 - 7,0	32,6	
17/18.	9,5	8,2	0,2020	-0,8408	-0,6069	0,1276	7,835	13,2 - 5,4	12,9	
19/20.	= 2,6	<14,5							51,2	
21/22.	2,9	<9,9							38,8	
23/24.	3,0	<10,4							42,1	
25/26.	2,8	<5,8							25,0	

Tab. Nr. 20 Prob. C K.M. Gesamtgonadotropin - und Gesamtöstrogenausscheidung

im unbehandelten Zyklus

Zyklus- tag	Gesamtgonadotropine		Gültigkeitskriterien				Präzision		Vertrauens- grenzen	Gesamt - östrogene
	biologisch HMG 20A/24 ^h	immunol. IE Äqu/24 ^h	Regress. g	Parall. t ₁	Gl. Wirk. t ₂	χ^2	L			
7./8.	5,8	< 6,7								14,2
9./10.	5,8	< 6,7								21,8
11./12.	14,0	11,6	0,0588	2,5842	3,8512	0,067	14,93	17,61 - 11,8	7,2	
13./14.	5,3	11,6							15,6	
15./16.	6,0	5,08							12,1	
17./18.	6,0	4,9							11,1	
19./20.	4,0	3,55							11,7	
21./22.	< 2,6	< 6,22							15,3	
23./24.	< 2,6	< 3,25							16,8	
25./26.	< 2,6	< 7,12							17,1	

Tab. Nr. 18 Prob. C K.M. Gesamtgonadotropin - und Gesamtöstrogenauscheidung
unter 50 μ ÄÖ + 1mg ANTA vom 5. bis zum 24. Zyklustag

Zyklus	Dauer	hyperth. Phase	Bestimmung von- bis	Gona. Maximum		Grad der Hemmung.	Gona. Durchschn.		Grad der Hemmung.	Gesamt- östrogene		Grad der Hemmung.
				biol.	imm.		biol.	imm.		Max.	Ø	
Normal - zyklus	27 Tage	11 Tage	7. bis zum 26. Ztg.	18,4 am	29,3 am		6,8 n=22			41,5 am 13/14. 51,2	31,4	
Zyklus unter 50 μ ÄÖ + 1mgAMTA vom 5.-24.Ztg.	27 Tage	13 Tage	7. bis 26. Ztg.	14,0 am	11,6 am	biol. um 24 % imm. um 60 %	5,1 n=22		um 25 %	21,7 am	13,4	um 62 % im Max. 55 % im Ø

Tab. Nr. 6 Prob. C K.M. Zyklus unter 50 μ ÄÖ + 1mg AMTA vom 5. bis zum 24. Zyklustag
im Vergleich zum Normalzyklus

Zyklus- tag	Gesamtgonadotropine	Gültigkeitskriterien				Präzision		Vertrauens- grenzen	Gesamt- östrogene
		biologisch HMG 20A/24 ^h	immunol. FE Äqu./24 ^h	Regress. g	Parall. t ₁	Gl.Wirk. t ₂	s	L	
7/8.	2,9		< 6,25						
9/10.	4,0		< 6,6						
11/12.	5,6		< 6,3						wegen
13/14.	5,0		< 8,5						ungenau-
15/16.	14,0		< 11,4	0,2091	0,2896	-2,6557	0,1451	6,8878	19,24 - 8,4
17/18.	7,8		< 5,2	0,4119	-0,5012	-1,423	0,1772	5,6409	12,3 -3,28
19/20.	4,4		< 5,7						
21/22.	4,0		< 6,3						
23/24.	= 2,6		< 7,8						
25/26.	2,8		< 9,6						

Tab. Nr. 19 Prob. A G.M. Gesamtgonadotropinausscheidung unter

50 µÄÖ vom 5. bis 24. + 2,5 mg ANTA vom 20. bis 24.

Zyklus-
tag

Zyklus	Dauer	hyperth. Phase	Bestimmung von - bis	Gona.		Grad der Hemmung.	Gona. Durchschn		Grad der Hemmung.	Gesamt - östrogene		Grad der Hemmung.
				biol.	imm.		biol.	imm.		Max.	Ø	
Normal - zyklus	28 Tage	13 Tage	7. bis 28. Ztg.	11,8 am	11,8 am		6,4 n=20			44,4 am	29,3	
				15./16.	7./8					15/16.		
Zyklus unter 50* ÄÖ v. 5. bis 24. +2,5mgANTA v.20-24. Ztg.	27 Tage	11 Tage	7. bis 26. Ztg.	14,0 am	11,4 am	18,6 % über d n=20	5,3 n=20		um 17%	wegen ungenauer Bestimmungen nicht verwertbar		
				15/16.	15/16.	Normzyk.						

Tab. Nr. 7 Prob. A G.M. Zyklus unter 50* ÄÖ vom 5. bis zum 24. Zyklustag + 2,5 mg ANTA vom 20. bis zum 24. Zyklustag im Vergleich zum Normalzyklus:

Zyklus- tag	Gesamtgonadotropine biologisch HMG 20A/24 ^h	immunol. h IEÄqu/24 ^h	Gültigkeitskriterien			Präzision		Vertrauens - grenzen
			Regress. s	Parall. t ₁	Gl.Wirk t ₂	λ	L	
7/8.	5,5	< 7,7						
9/10.	6,1	< 7,2						
11/12.	6,2	< 7,6						
13/14.	12,7	< 6,8	0,2844	0,3564	1,1493	0,1693	5,906	21,8 - 8,66
15/16.	6,3	< 10,7	0,2127	-1,0088	-2,249	0,1627	6,1467	8,79 - 3,48
17/18.	6,2	< 10,7	0,2840	-1,4546	-2,896	0,188	5,3193	7,2 - 3,4
19/20.	4,7	< 8,7						
21/22.	4,1	< 10,5						
23/24.	2,7	< 8,3						
25/26.	3,4	< 10,0						

Tab. Nr. 15 Prob. A G.M. Gesamtgonadotropinausscheidung unter 50 μ ÄÖ + 2,5mg ANTA
vom 5. bis zum 24. Zyklustag

Zyklus	Dauer	hyperth. Phase	Bestimmung von - bis	Gona.		Grad der Hemmung.	Gona. Durchschn.		Grad der Hemmung.	Gesamt - östrogene		Grad der Hemmung.
				biol.	imm.		biol.	imm.		Max.	Ø	
Normal - zyklus	28 Tage	13 Tage	7. bis 28. Ztg.	11,8 am	<11,8 keine meßb. Werte		6,4 n=20			44,4 am	29,3	
Zyklus unter 50 µg ÖÖ + 2,5 mg ANTA vom 5. - 24. Zktg.	26 Tage	18 Tage	7. bis 26. Ztg.	6,3 am 15/16. 12,7 am 13/14.	<10,7 keine meßb. Werte	um 47%	5,8 n=20		um 9%	Östrogene dieses Zyklus nicht bestimmt		

Tab. Nr. 3 Prob. A G.M. Zyklus unter 50 µg ÖÖ + 2,5 mg ANTA vom 5. bis zum 24. Zyklustag
im Vergleich zum Normalzyklus

Zyklus- tag	Gesamtgonadotropine		Gültigkeitskriterien				Präzision		Vertrauens- grenzen	Gesamt- östrogene
	biologisch HMG 20A/24 ^h	immunol. IEÄqu/24 ^h	Regress. ε	Parall. t ₁	Gl.Wirk. t ₂	λ	L			
7/8.	6,6	< 8,3						28,9		
9/10.	6,6	< 8,5						15,4		
11/12.	6,0	< 8,4						18,6		
13/14.	4,5	< 8,4						5,7		
15/16.	< 2,6	< 6,9						5,7		
17/18.	< 2,6	< 10	wurden in Zyklusmitte					6,8		
19/20.	< 2,6	< 7,8	nicht berechnet, da					2,6		
21/22.	< 2,6	< 7,7	die Werte 2,6 liegen					4,2		
23/24.	< 2,6	< 7,4						7,1		
25/26.	< 2,6	< 7,0						nicht bestimmt		

Tab. Nr. 13 Prob. A G.M.

Gesamtgonadotropin - und Gesamtöstrogenauscheidung

unter 50 μ ÄÖ + 4 mg ANTA vom 5. bis zum 24.

Zyklustag

Zyklus	Dauer	hyperth. Phase	Bestimmte von - bis	Gona. Maximum biol.	Gona. imm.	Grad der Hemmg.	Gona. Durchschn. biol.	Gona. imm.	Grad der Hemmg.	Gesamt - östrogene Max.	Gesamt - Ø	Grad der Hemmg.
Normal - zyklus	28 Tage	13 Tage	7. bis 28. Ztg.	11,8 am 15/16.	< 11,8 keine meßb. Werte		6,4 n=20			44,4 am 15/16.	29,3	
Zyklus unter 50 r ÄÖ + 4mg ANTA vom 5.-24. Ztg.	28 Tage	21 Tage	7. bis 26. Ztg.	< 2,6 am 15/16 6,6 am 7./8.	< 10 keine meßb. Werte	um 78 %	3,15 n=20		um 51 %	5,7 am 15/16. 28,9 am 7./8.	10,5	im Max. um 77% im um 74%

! 20 1

Tab. Nr. 1 Prob. A G.M. Zyklus unter 50 r ÄÖ + 4mg ANTA vom 5. bis zum 24. Zyklustag im Vergleich zum Normalzyklus

Zyklus- tag	Gesamtgonadotropine		Gültigkeitskriterien				Präzision		Vertrauens -	Gesamt -
	biologisch HMG 20A/24 ^h	immunol. IEA _{qu.} /24 ^h	Regress. R	Parall. t ₁	Gl.Wirk. t ₂		L	L		
7/8.	4,5	= 6,9								9,7
9/10.	3,8	< 9,2								12,6
11/12.	< 2,6	< 8,1								26,3
13/14.	< 2,6	< 7,9								27,5
15/16.	< 2,6	< 7,0								26,3
17/18.	< 2,6	< 9,0								15,3
19/20.	< 2,6	< 7,5								6,5
21/22.	< 2,6	< 7,2								20,0
23/24.	< 2,6	< 10,5								6,3
25/26.	< 2,6	< 8,3								12,9
27/28.	< 2,6	< 6,7								8,0

1
69
1

Tab. Nr. 14 Prob. B E.Fr. Gesamtgonadotropin - und Gesamtöstrogenauscheidung
unter 50^{mg} ÖÖ + 4 mg ANTA vom 5. bis zum 24. Zyklustag

Zyklus	Dauer	hyperth. Phase	Bestimmung von-bis	Gona.		Grad der Hemmg.	Gona. Durchschn.		Grad der Hemmg.	Gesamt - östrogene Max.	Ø	Grad der Hemmg.
				biol.	imm.		biol.	imm.				
Normal - zyklus	28 Tage	12 Tage	7. bis 28. Ztg.	7,2 am	4,7 am		2,9 n=20			39,3 am	22,9 n=20	
				17/18. am	21/22.		2,8 n=22			17/18. am	22,2 n=22	
Zyklus unter 50 mg AÖ + 4mg ANTA vom 5. - 24. Ztg.	28 Tage	23 Tage	7. bis 28. Ztg.	4,2 am 17/18. am	6,9 am 7/8.	da kein meßb. Wert nicht errechb.	1,8		um 36%	15,3 am 17/18. am 27,5 am 13/14.	15,6 um Max. 61 % im Ø um 30%	

Tab. Nr. 2 Prob. B. E. Fr. Zyklus unter 50 mg AÖ + 4 mg ANTA vom 5. bis zum 24. Zyklustag im Vergleich zum Normalzyklus

Zyklus- tag	Gesamtgonadotropine		Gültigkeitskriterien			Präzision		Vertrauens - grenzen
	biologisch HMG 20A/24 ^h	immunol. IEAgu/24 ^h	Regress. s	Parall. t ₁	Gl.Wirk. t ₂	s	L	
7/8.	5,7	< 7,5						
9/10.	5,7	< 6,8						
11/12.	5,8	14,3						
13/14.	5,7	13,9						
15/16.	5,7	14,7						
17/18.	24,2	16,5	0,1181	2,4385	13,448	0,1091	9,167	32,0 - 19,0
19/20.	15,7	< 8,0	0,0538	5,8147	5,5989	0,0724	13,802	18,7 - 12,8
21/22.	12,4	< 9,9	0,0987	2,8225	5,7616	0,0998	10,018	15,3 - 9,8
23/24.	6,0	< 8,7						
25/26.	5,5	< 9,5						

Tab. Nr. 9 Prob. A G.M. Gesamtgonadotropinausscheidung im 2. Spontanzyklus
nach einer einjährigen zyklischen Medikation von
50⁰ ÄÖ + 4 mg ANTA (Anovlar)

Zyklus- tag	Gesamtgonadotropine		Gültigkeitskriterien				Präzision		Vertrauens - grenzen	Gesamt - östrogene
	biologisch HMG 20A/24	immunol. IEÄqu/24	Regress. g	Parall. t ₁	Gl.Wirk. t ₂		λ	L		
7/8.	4,0	< 11,8								16,7
9/10.	6,0	< 6,1								24,8
11/12.	6,2	11,0								21,2
13/14.	5,5	< 5,4								29,8
15/16.	11,8	< 6,6	0,0517	2,5649	1,466	0,0628	15,92	13,46 - 11,0		44,4
17/18.	11,2	< 5,1	0,0839	1,4477	0,5599	0,0803	12,46	13,59 - 10,0		32,9
19/20.	10,8	< 10,8	0,1042	0,1939	0,1603	0,0891	11,22	13,3 - 8,4		28,8
21/22.	5,1	< 6,1								38,9
23/24.	< 2,6	< 4,4								30,4
25/26.	< 2,6	< 4,8								25,0
27/28.	2,8	< 8,1								nicht bestimmt

Tab, Nr. 10 Prob. A G.M.

Gesamtgonadotropin - und Gesamtöstrogenausscheidung

im 3. Spontanzyklus nach einer einjährigen zyklischen
medikation von 50 r ÄÖ + 4 mg ANTA (Anovlar)

Zyklus- tag	Gesamtgonadotrope biologisch HMG 20A/24 ^h	immunol. iEÄqu/24 ^h	Gültigkeitskriterien			Präzision		Vertrauens - Grenzen
			Regress. g	Parall. t ₁	Gl. Wirk. t ₂	u	L	
9/10.	3,0	< 6,0						
11/12.	3,5	< 6,1						
13/14.	verschüttet	< 9,7						
15/16.	< 2,6	< 7,7						
17/18.	< 2,6	< 9,6						
19/20.	< 2,6	< 8,5						
21/22.	< 2,6	< 8,6						
23/24.	< 2,6	< 7,2						
25/26	< 2,6	< 9,4						
27/28.	< 2,6	< 9,0						
29/30.	6,1	8,0	0,3353	-1,9377	-2,927	0,1599	6,2531	9,1 - 2,3
31/32.	3,1	4,7	0,1642	-0,9764	-4,004	0,1119	,937	3,8 - 2,1
33/34.	2,62	< 8,2						
35/36.	2,64	< 10,3						
37/38.	2,8	< 6,4						

Tab. Nr. 11 Prob. B E.Fr. Gesamtgonadotropinausscheidung im 1 Spontanzyklus nach einer 1 1/2 jährigen zyklischen Medikation von 50 mg ÄÖ + 4 mg ANZA (Anovla

Zyklus- tag	Gesamtgonadotropine		Gültigkeitskriterien				Präzision		Vertrauens - Grenzen	Gesamt - östrogene
	biologisch HMG 20A/24 ^h	immunol. IEÄqu/24 ^h	Regression g	Parall. t ₁	Gl. Wirk. t ₂	u	L			
7/8.	< 2,6	< 6,5								
9/10.	< 2,6	< 5,7								
11/12.	< 2,6	< 8,2								
13/14.	< 2,6	< 7,1								
15/16.	4,2	<10,2	0,0279	0,066	-3,8495	0,0461	21,67	4,76 - 3,73	25,2	
17/18.	7,2	< 6,2	0,0555	-2,2032	-4,8435	0,0651	15,36	8,57 - 5,85	39,3	
19/20	4,2	< 9,9	0,0177	0,7853	4,9764	0,0528	18,94	4,63 - 3,81	24,6	
21/22.	4,1	= 4,7								
23/24.	< 2,6	< 4,6								
25/26.	3,2	< 5,6								
27/28.	< 2,6	< 7,2								

Tab. Nr. 12 Prob. B E.Fr. Gesamtgonadotropin - und Gesamtöstrogenauscheidung

im 2. Spontanzyklus nach einer 1 1/2 jährigen zyklischen
Medikation von 50 IE Ö + 4 mg ANTA (Anovlar)

Zyklus	Dauer	hyperth. Phase	Best. von-bis	Gona. Max.		Gona. $\emptyset$		Gesamtöstr. $\emptyset$	
				h _{fol.}	h _{tr.}	h _{fol.}	h _{tr.}	Max.	$\emptyset$
1. Spontanzzyklus nach 1 1/2 jähr. zykl. Anovlarth.	39 Tg.	6 Tg.	9. -38. Ztg.	6,1 am 29/30.	8 am 29/30.	2,34			
2. Spontanzzyklus nach 1 1/2 jähr. zykl. Anovlarth.	28 Tg.	12 Tg.	7. -28. Ztg.	7,2 am 17/18.	4,7 am 21/22.	2,8		39,3 am 17/18.	22,2
2. Spontanzzyklus nach 1 jähr. zykl. Anovlarth.	28 Tg.	nicht ver- wertbar	7. -26. Ztg.	24,2 am 17/18.	16,5 am 17/18.	9,24			
3. Spontanzzyklus nach 1 jähr. zykl. Anovlarth.	28 Tg.	13 Tg.	7. -28. Ztg.	11,8 am 15/16.	<11,0 am 11/12.	6,0		44,4 am 15/16.	29,3

Tab. Nr. 8 Zyklusverlauf nach Absetzen einer zyklischen Langzeitbehandlung mit
50 mg ÄÖ + 4 mg ANTA (Anovlar)

GESAMTGNADOTROPIN - UND GESAMTÖSTROGEN - AUSSCHIEDUNG IM NORMALZYKLUS UND UNTER MEDIKATION von 1 mg ANTA + 50 µg ÄTHINYL - ÖSTRADIOL vom 5. BIS 24. ZYKLUSTAG.

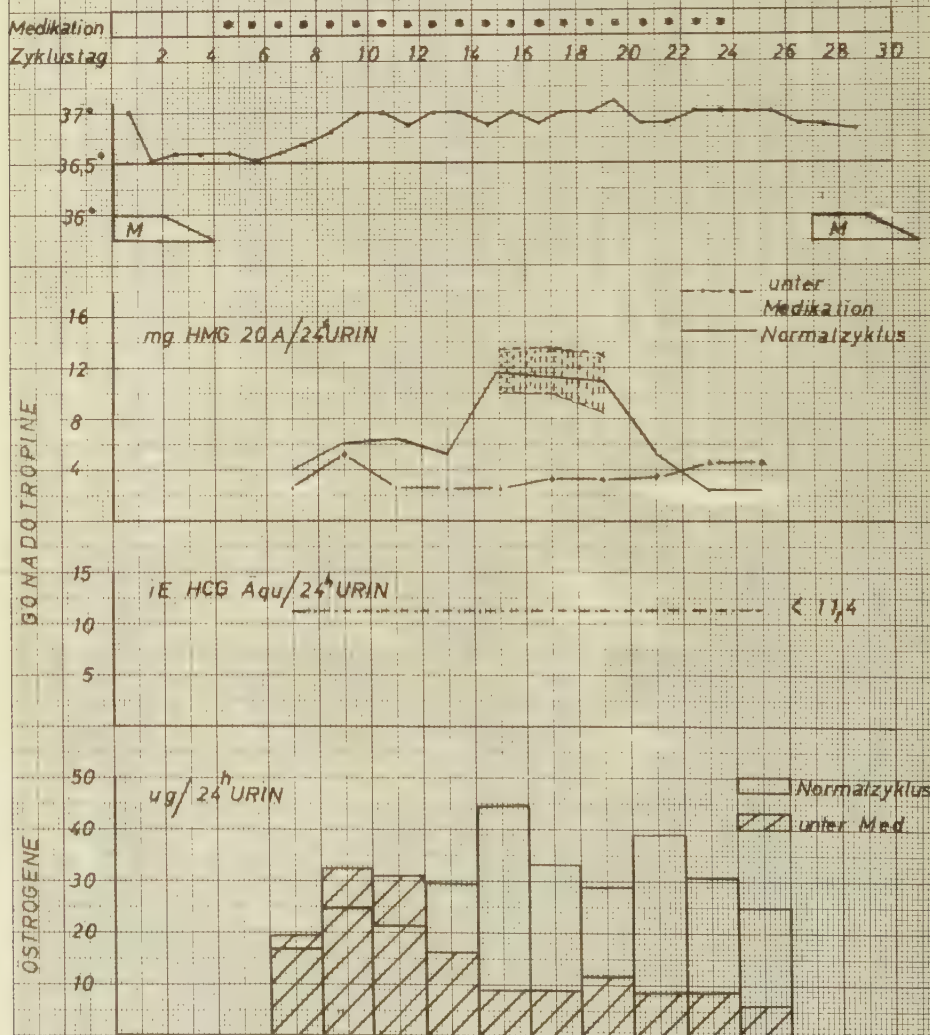


Abb. 8 Prob. A. G.M.

GESAMTGONADOTROPIN-UND GESAMTÖSTROGEN- AUSSCHIEDUNG IM NORMALZYKLUS UND UNTER MEDIKATION VON 1 mg ANTA + 50 µg ÄTHINYLÖSTRA- DIOL VOM 5. BIS 24. ZYKLUSTAG

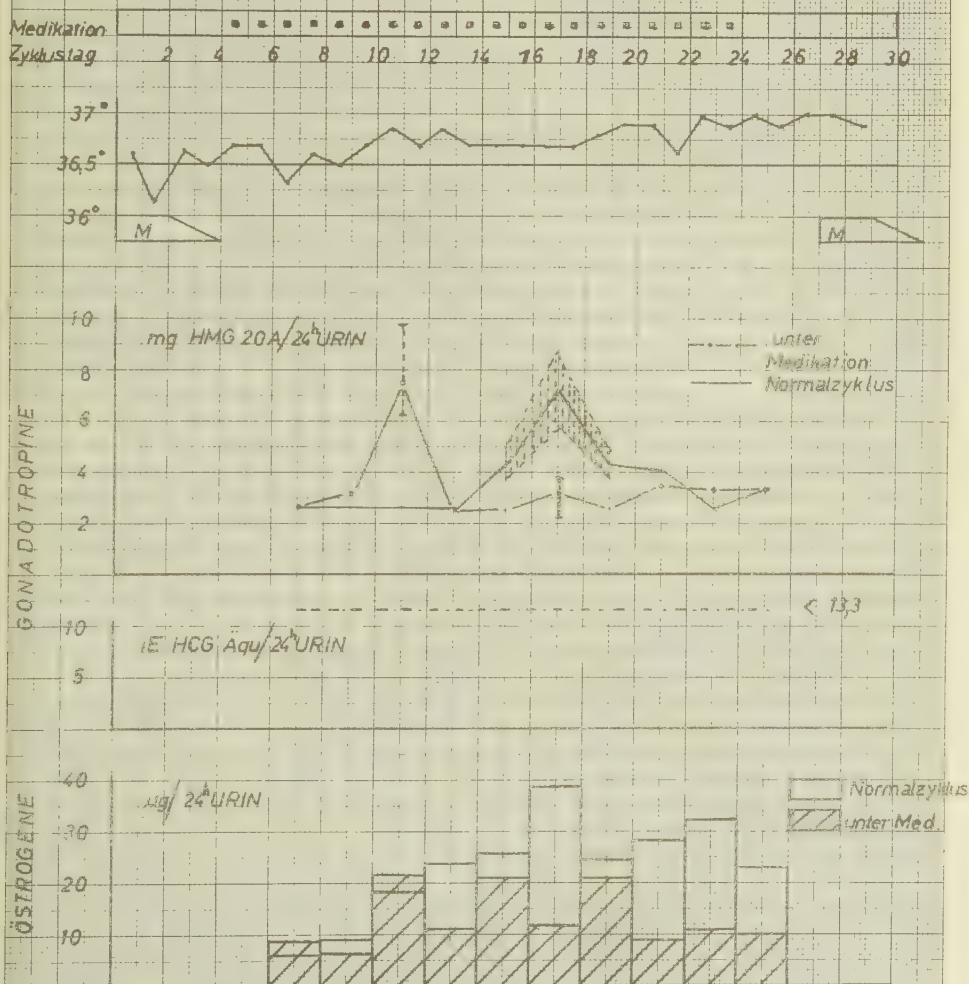


Abb. 9. Prob. B. E. Fr.

GESAMTGONADOTROPIN-UND GESAMTÖSTROGEN- AUSSCHIEDUNG IM NORMALZYKLUS UND UNTER MEDIKATION VON 1mg ANTA + 50 µg ÄTHINYL- ÖSTRADIOL VOM 5. BIS 24. ZYKLUSTAG.

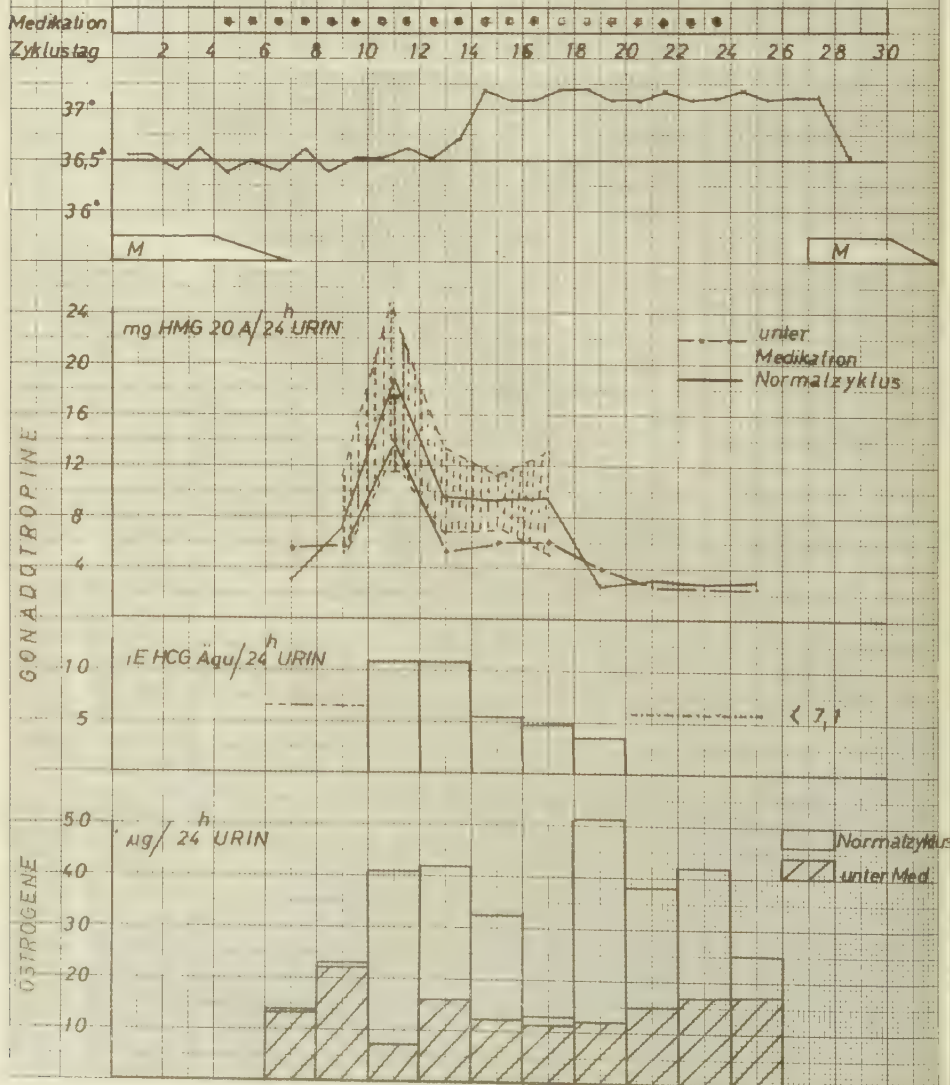
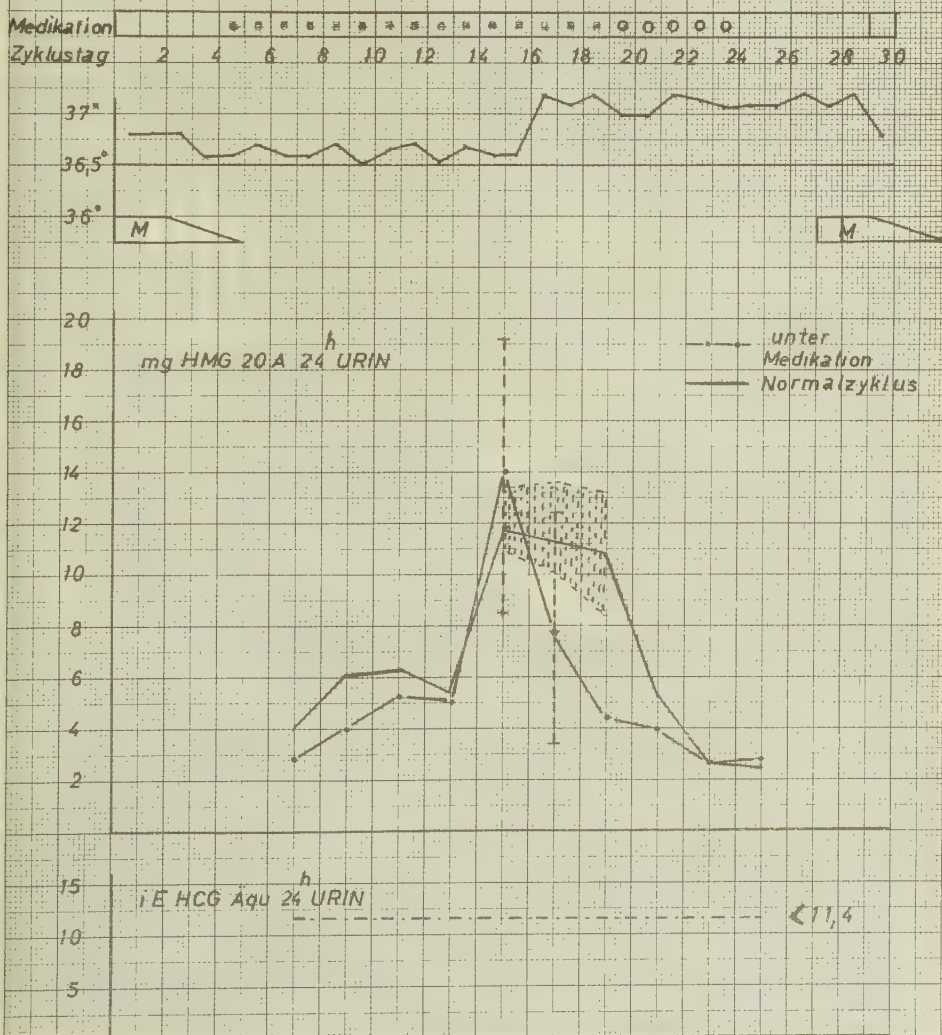


Abb. 10 Prob. C KM

GESAMTGONADOTROPINAUSSCHIEDUNG IM
NORMALZYKLUS UND UNTER MEDIKATION VON
50 µg ÄTHINYLÖSTRADIOL VOM 5. BIS 24. UND
2,5 mg ANTA + 50 µg ÄTHINYLÖSTRADIOL
VOM 20. BIS 24. ZYKLUSTAG.



GESAMT GONADOTROPINAUSSCHIEDUNG IM
NORMALZYKLUS UND UNTER MEDIKATION VON
2,5 mg ANTA + 50 µg ÄTHINYLOSTRADIOL VOM
5. BIS 24. ZYKLUSTAG.

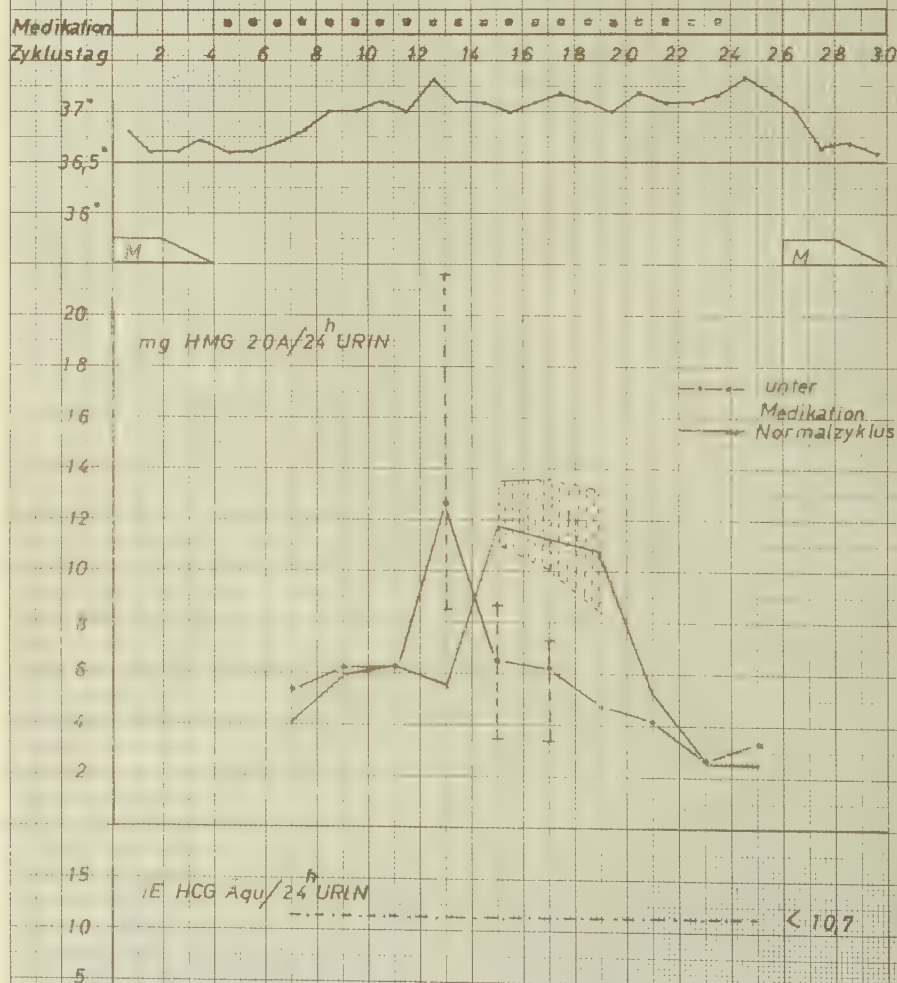


Abb. 7. Prob. A. G.M.

GESAMTGONADOTROPIN- UND GESAMTÖSTROGEN- AUSSCHIEDUNG IM NORMALZYKLUS UND UNTER MEDIKATION VON 4 mg ANTA + 50 µg ÄTHINYL- ÖSTRADIOL VOM 5. BIS 24. ZYKLUSTAG

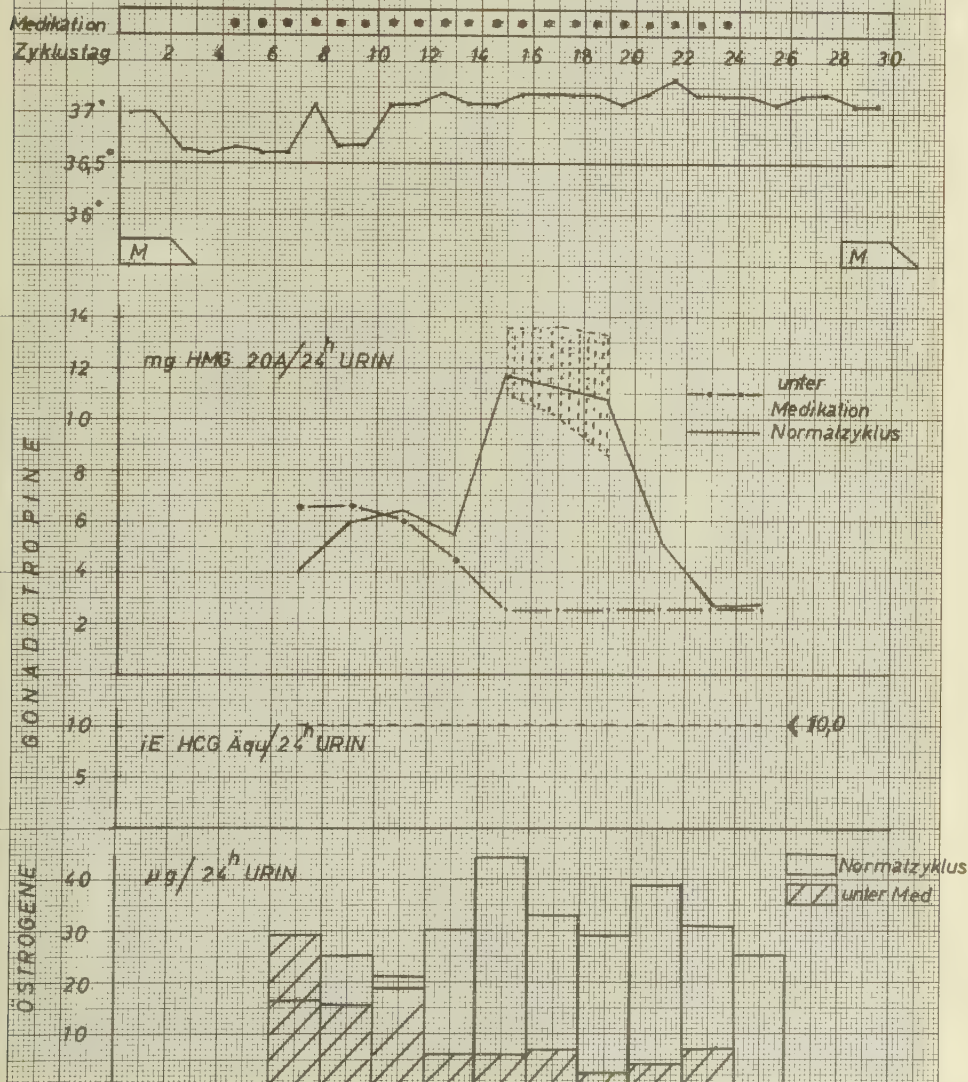


Abb. 5 Prob. A G.M

GESAMTGONADOTROPIN- UND GESAMTÖSTROGEN-
AUSSCHIEDUNG IM NORMALZYKLUS UND UNTER
MEDIKATION VON 4 mg ANTA + 50 µg ETHINYL-
ÖSTRADIOL VOM 5. BIS 24. ZYKLUSTAG.

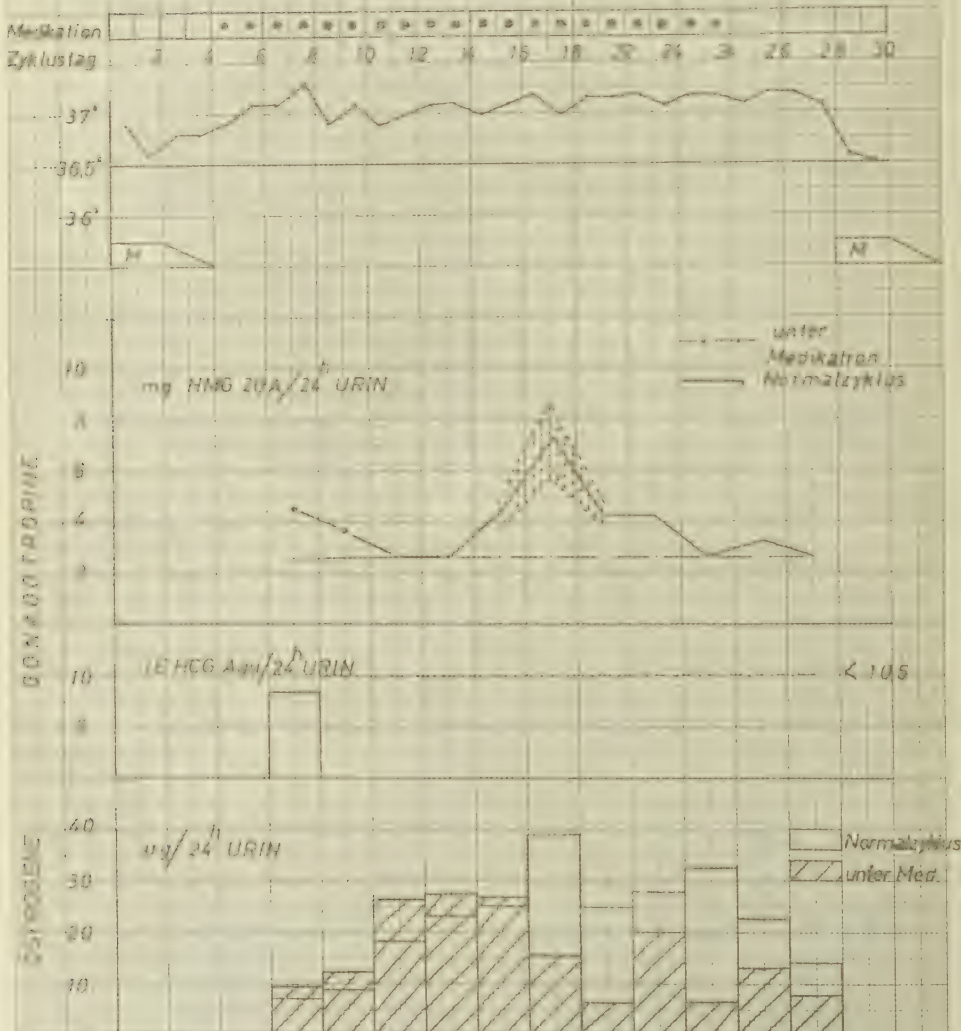
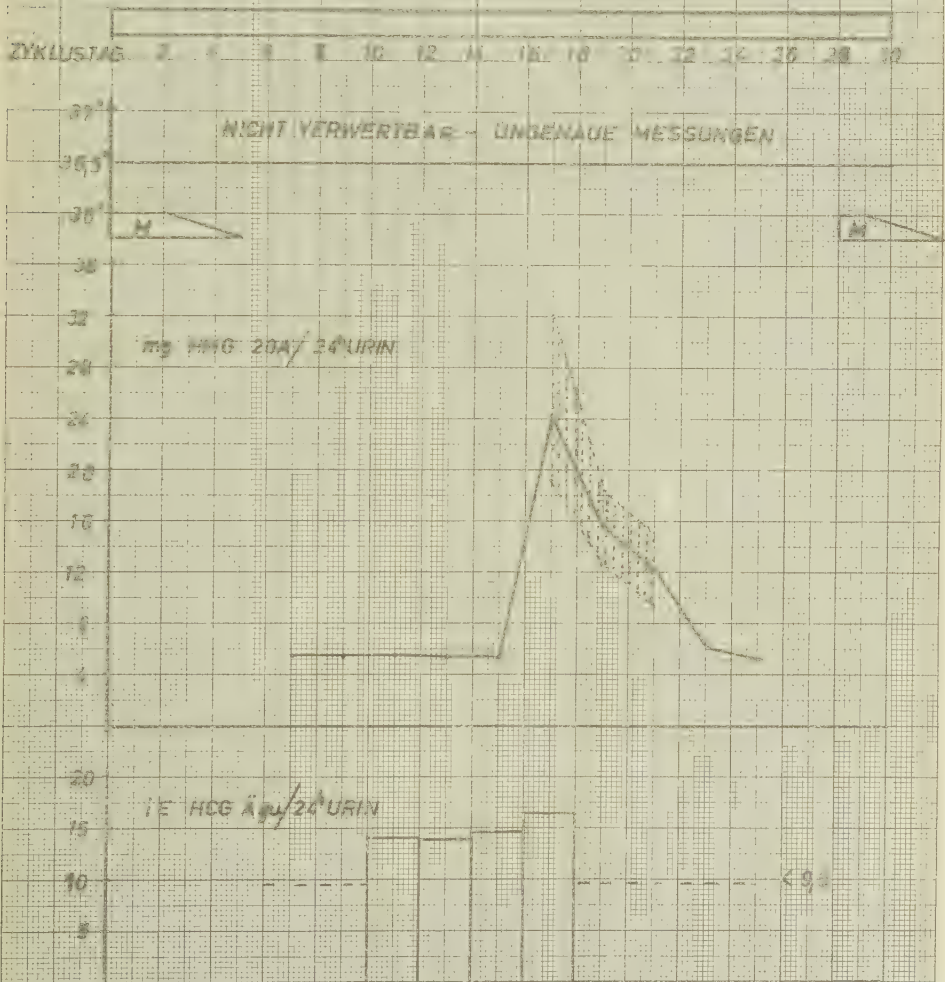
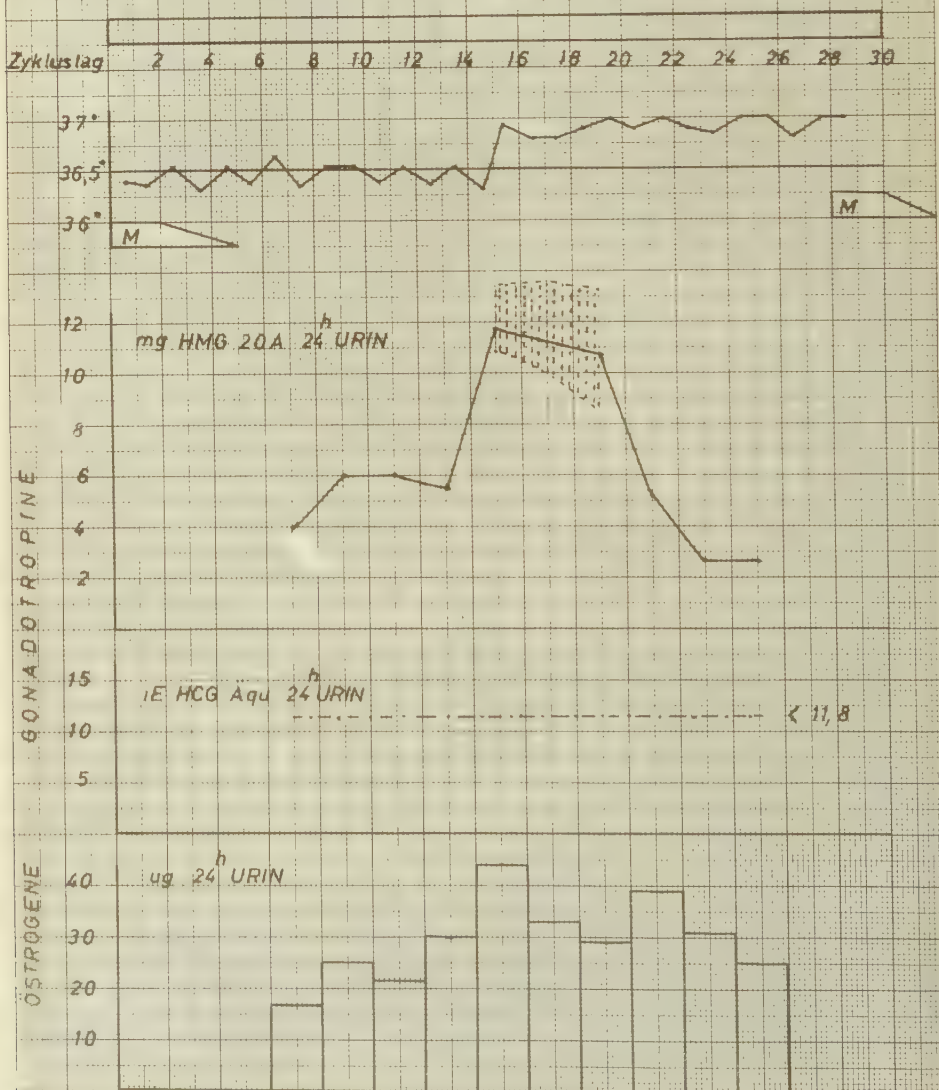


Abb. 6 Prob. B E.Fr.

GESAMTÖÖRADDIÖRINAUSSCHEIDUNG IN
2 SPONTANZYKLUS (NACH EINER 1. JÄHRIGEN ZYKLISCHEN
MEDIKATION VON 5 mg ANTA +
50 µ ÄTHINYLOSTRADIOL



GESAMTGONADOTROPIN- UND GESAMTÖSTROGEN-
AUSSCHIEDUNG IM 3. SPONTANZYKLUS NACH EINER
1-JÄHRIGEN ZYKLISCHEN MEDIKATION VON 4 mg ANTA +
50 µg ETHINYLOSTRADIOL



GESAMTGNADOTROPINAUSSCHEIDUNG IM 1 SPONTANZYKLUS NACH EINER
1 1/2 JÄHRIGEN ZYKLISCHEN MEDIKATION VON 4 mg ANTA + 50 FATHINYLOSTRADIOL

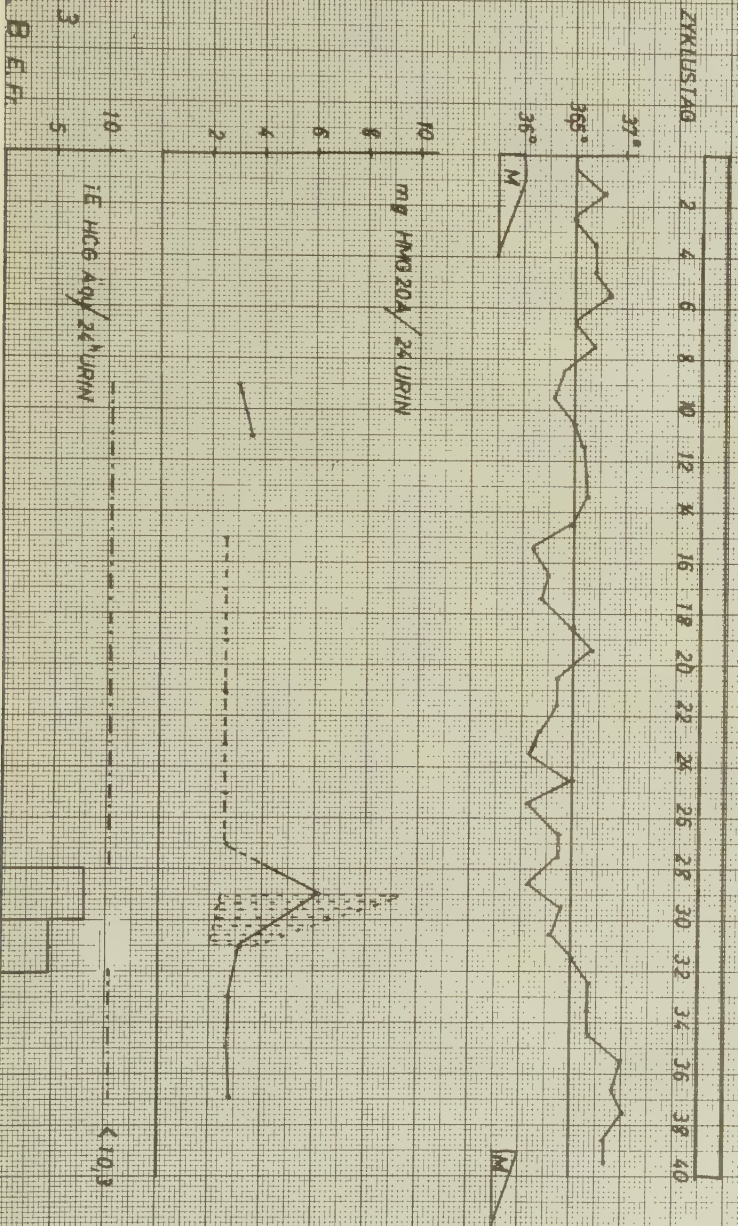
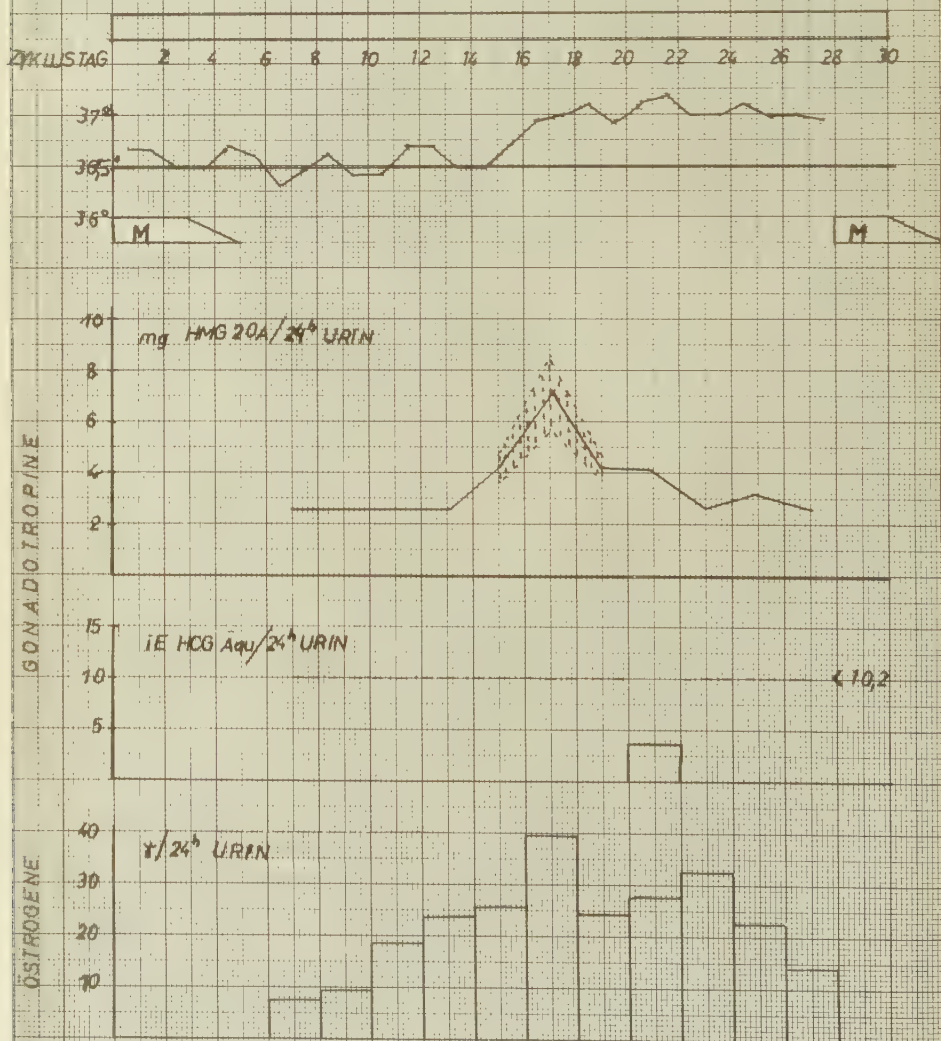


Abb. 3
Prog. B. E. F.

i.E. HCG 400/24h URIN

< 10,0

GESAMTGONADOTROPIN- UND GESAMTÖSTROGEN-
AUSSCHIEDUNG IM 2 SPONTANZYKLUS NACH EINER
1 1/2 JÄHRIGEN ZYKLISCHEN MEDIKATION VON 4 mg ANTA
+ 50* ÄTHINYLOSTRADIOL



X . L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1 Albert, A.
 Human Pituitary Gonadotrophin. Ch.C.Tomas, Publisher;
 Springfield, III. USA (1961)
- 2 Albert, A., R. Borth, E. Diezfalusy, J.A. Loraine, B. Lusenfeld, J.W. McArthur and E. Rosenberg
 Ergebnisse einer Zusammenarbeit zur Ermittlung einer
 einheitlichen Aufarbeitung der Harngonadotropine.
 J.Clin.Endocr.a.Metab. 18/10, 117 (1958)
- 3 Albert, A., S. Kelly, L. Silver and J. Kobi
 Extraktion und Reinigung der Harngonadotropine.
 J.Clin.Endocr.a.Metab. 18/6 600 (1958)
- 4 Alexandritis, D., M. Apostolakis and K.D. Voigt
 Comparative studies on methods of assay for a routine,
 clinical gonadotrophin determination in human urine.
 Acta endocr. 29, 237 (1958)
- 5 Aschheim S. und J. Zondek
 Hypophysenvorderlappenhormon und Ovarialhormon im Harn
 von Schwangeren. Klin.Wschr. 6,1322 (1927)
- 6 Aschner, B.
 Über die Beziehung zwischen Hypophysis und Genitale.
 Arch.Gynäk. 97, 200 (1912)
- 7 Belle und Helaers
 Dosage polarographie de la gonadotrophine. (4. Symposion)
 Bull.Soc.roy.Belge Gynec.et Obstetr. N.S. 27, 633
 (1957)
- 8 Bickenbach, W., Döring, G.K.
 "Die Sterilität der Frau", Georg-Thieme-Verlag Stuttgart
 13 (1964)
- 9 Bickenbach, W., Döring, G.
 Die neurohormonale Regulation der weiblichen Genitalfunktion.
 Dtsch.med.Wschr. 15, 517 (1951)
- 10 Bickenbach, W., Döring, G. und Hossfeld C.
 Experimentelle Frönuovulation durch Zervixreizung beim Menschen.
 Arch.Gynäk. 192, 412 (1960)
- 11 Bickenbach, W., Döring, G. und Uhlenhoff M.
 Über den Einfluß der Rückenmarksdurchtrennung auf den
 Scheidenzyklus der weißen Ratte. Arch.Gynäk. 181, 524
 (1952)

- 12 Bickenbach, W. und E. Paulikovics
Hemmung der Follikelreifung durch Progesteron bei der Frau. Zbl.Gynäk. 68, 153 (1944)
- 13 Boyden, S.V.
The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by anti - protein sera. J.exp.Med. 93, 107 (1951)
- 14 Borth, R., Diczfalusy E. und H.D. Heinrichs
Grundlagen der stat. Auswertung biolog. Bestimmungen. Arch.Gynäk. 188, 497 (1957)
- 15 Braga, A.
Eliminations orinaria di sostanza riducenti muco-proteiche durvant il ciclo mestruale. Ann. Obstetr. Ginec. 72, 203 (1957)
- 16 Brown, P.S.
The assay of gonadotrophin from urine of non pregnant human subjects. J.Endocr. 13, 59 (1955)
- 17 Brown, J.B., K. Fotherby, J.A. Loraine
The effect of norethisterone and its acetate on ovarian and pituitary function during the menstrual cycle. J.Endocr. 25, 331 (1962)
- 18 Brown, J.B., K. Fotherby and J.A. Loraine
The effect of 17 - ethinyl - 19 - nortestosterone (norethisterone) on the urinary excretion of oestrogens, pregnandiol and gonadotrophins during the menstrual cycle. Proc.roy.Soc.Med. 53, 431 (1960)
- 19 Brown, J.B., A. Klopfer, J.A. Loraine
The urinary excretion of oestrogens, pregnandiol and gonadotrophins during the menstrual cycle. J.Endocr. 17, 401 (1958)
- 20 Buchholz, R.
"Symposion über Krebsprobleme". Die Harngonadotropine bei weibl. Genitalca. und ihre Beeinflussung durch Verabfolgung von Keimdrüsenhormonen. Springer-Verlag Bln.-Göttingen-Heidelberg, 85 (1961)
- 21 Buchholz, R.
Quantitative Bestimmungen der gonadotropen HVL-Hormone im Zyklus. Geburtsh.u.Frauenheilk. 17, 707 (1957)

- 22 Buchholz, R.
Untersuchungen über die Ausscheidungsverhältnisse
der gonad. Hypophysenhormone FSH u. ICSH im menstruel-
len Zyklus.
Z.ges.exp.Med. 128, 219 (1957)
- 23 Buchholz, R., Nocke, L. und W. Nocke
Der Einfluß von Gestagenen auf die Urinausscheidung
von Hypophysen-Gonadotropinen, Ostrogenen und Preg-
nandiol bei Frauen jenseits der Menopause und während
des Menstruationszyklus. Internat.J.Fertil. 9, 1 : 231
(1964)
- 24 Butt, W.R., A.C. Crooks and F. Cunningham
Weitere Beobachtungen über eine neue Methode zur Go-
nadotropinextraktion aus dem Harn. Acta endocr.
30 / 3. 378 (1959)
- 25 Diczfalusy, E. und H. Heinrichs
Gonadotropine und ihre Bestimmungen. Arch.Gynäk. 187,
556 (1956)
- 26 Drescher, J.
Experimentelle Untersuchungen zum Gonadotropinstoff-
wechsel. Geburtsh.u.Frauenheilk. 18, 592 (1958)
- 27 Eckstein, P., J.A.H. Waterhouse, G.M. Bond, W.G. Mills,
D.M. Sandilands, D.M. Shotton
The Birmingham Oral Contraceptive. Trial.brit.med.J.
II, 1172 (1961)
- 28 v.Eickstedt und Hasselblatt
5. Symposium der Deutschen Ges. für Endokrinologie,
Freiburg (Brsg.) März 1957
- 29 Engle, E.T.
In Allens': Sex and Internal Secretions. London 1939
- 30 Fukushima, M., Stevens, V.C. u.a.
Urin - FSH und LH Ausscheidung während des norm. Men-
struationszyklus. J.Clin.Endocr. 24, 2; 205 (1964)
- 31 Geiger, W.
Über die Anreicherung von Gonadotropinen im Harn und
über immunhämатologische und biologische Gonadotropin-
bestimmungen im Harn bei Amenorrhöen und nach der Me-
nopause. Inaugural-Dissertation, 35, München 1965

- 32 Goldzieher, J.W. u.a.
Ein neues orales Antikonzipiens. Die Zweiphasenbehandlung mit Östrogen-Gestagenen. Sonderdr. aus Fortschr. d. Medizin Nr. 4, 83. Jhrg. 13, 161 (1965)
- 33 Goldzieher, J.W. and Nakamura, Y.
A clinical method for the Determination of urinary pregnandiol and Pregnanediol. Acta enaocr. 41 / 371 (1962)
- 34 Gual, C., C. Becerra, E. Rice-Wray and J.W. Goldzieher
Inhibition of ovulation by estrogens. Am.J.Obstetr. Gynec. 97 : 443 (1967)
- 35 Haberlandt, L.
"Über hormonale Sterilisierung des weiblichen Tierkörpers". Münchner med.Wschr. 68, 1577 (1921)
- 36 Haller, J.
Die medikamentöse Hemmung der Ovulation. Fortschr. Geburtsh. Gynäk. 21, 37 / 106 (1965)
- 37 Haller, J.
Ovulationshemmung durch Hormone. Georg-Thieme-Verlag Stuttgart 111 (1965)
- 38 Haller, J., A. König
Hormonausscheidungen unter und nach Langzeitbehandlung mit ovulationshemmenden Östrogen-Gestagen-Kombinationen.
Geburtsh. u. Frauenheilk. 25, 95 (1965)
- 39 Hammerstein, J.
Hormonphysiologische Untersuchungen zur Frage der endokrinen Korrelation im biphasischen Menstrualzyklus der Frau. Arch.Gynäk. 196, 504 (1962)
- 40 Harris, G. and D. Jakobsohn
Funktional Grafts of the anterior pituitary gland. Proc.Roy.Soc. 139, 20 (1952)
- 41 Heller, C.G. und E.J. Heller
Gonadotropic hormone: Clinical applikation of extraktion methode for assay purposes. Endocrinology (Spr.) 24, 319 (1939)
- 42 Heynemann, Th.
Die Nachkriegsamenorrhoe. Klin.Wschr. 129 (1948)

- 43 Hohlweg, W. und E. Daume
Über die Wirkung intrazerebral verabreichten Dienöstrol-
diacetats bei Ratten. *Endokrinologie* 38, 46 (1959)
- 44 Hohlweg, W. und K. Junkmann
Die hormonal-nervöse Regulierung der Funktion des HVL.
Klin.Wschr. 321 (1932)
- 45 Ittich, G.
Vergleichende Untersuchungen über den Östrogenspie-
gel im Blut und die Östrogenausscheidung im Harn wäh-
rend des Menstruationszyklus. *Zbl.Gynäk.* 2, 1732 (1960)
- 46 Johnsen, S.G.
A clinical routine - method for the quantitative de-
termination of gonadotrophins in 24-hour-urine samples.
Acta endocr. 28, 69 (1958)
- 47 Johnsen, S.G., A. Albert und Wilson

Zit. nach Nr. 9, *J.Clin.Endocr.* (Spr.) 10, 371 (1950)
- 48 Johnsen, S.G. und C. Hamburger
Untersuchungen über Harngonadotropine. IV: Qualitati-
ve Unterschiede zwischen den internationalen Ver-
gleichspräparaten für HMG und anderen Extrakten aus
dem Harn von Frauen in der Postmenopause. *Acta endocr.*
32, 497 (1959)
- 49 Kaiser, R. und E. Daume
Zur Methodik und Hormonausscheidung bei der medikamen-
tösen Ovulationshemmung. *Fortschr.Geburtsh.Gynäk.*
vol. 21 pp 215 (Karger, Basel / New York 1965)
- 50 Kaiser, R., B. Mackert und W. Keyl
Die zeitliche Korrelation zwischen den Gonadotropin-
und Östrogenmaxima und den Basaltemperaturanstieg im
Zyklus. *Arch.Gynäk.* 199, 414 (1964)
- 51 Kaufmann, C.
Progesteron, Sein Schicksal im Organismus und seine
Anwendung in der Therapie. *Klin.Wschr.* 33, 345 (1955)
- 52 Kaufmann, C.
Corpus luteum. *Arch.Gynäk.* 183, 264 (1953)

- 53 Kirchhoff, H., J. Haller
Klinische Erfahrungen mit einer ovulationsunterdrückenden Östrogen-Gestagen-Kombination (Anovlar).
Med.Klin. 59, 681 (1964)
- 54 Klopfer, A. and E.A. Michie
The excretion of urinary pregnandiol after the administration of progesterone. J.Endocr. 13, 360 (1956)
- 55 Kneer, M.
Die Sexualhormone in der Frauenheilkunde und Geburtshilfe. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 35 (1951)
- 56 Labhart
Klinik der Inneren Sekretion. J. Springer Verlag.
Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957
- 57 Leone, U. u.a. (Franceschelli A. u. A. Ferreri)
Getrennte Bestimmungen von FSH und LH im Urin während des Menstruationszyklus. Monit. obstetr. Ginec. 36; 1 : 11 (1956)
- 58 Levin, L. and H.H. Tyndale
The quantitative assay of follicle stimulating substances. Endocrinology 21, 619 (1937)
- 59 Loraine, J.A.
Some observations on the value of urinary gonadotrophin assays as an index of pituitary funktion in man. Acta endocr. Suppl. 50, 85 (1960)
- 60 Loraine, J.A.
Internat.J.of Fertil. 9, 155 (1964)
- 61 Loraine, J.A. und E.T. Bell
Die Hormonausscheidung während des normalen Menstruationszyklus. Geburtsh.u.Frauenheilk. 24, 449 (1964)
- 62 Loraine, J.A., Bell, E.T. u.a.
Oral progestational agents. Lancet 7314 : 902 (1963)
- 63 Loraine, J.A. and E.T. Bell
Hormone excretion during the normal menstrual cycle. Lancet 7295 / I. 1340 (1963)
- 64 Loraine, J.A. and J.B. Brown
Some observations on the estimation of gonadotrophins in human urine. Acta endocr. 17, 250 (1954)

- 65 Loraine, J.A., Brown, J.B., K. Fotherby
Effect of ethinyl nortestosterone (norethisterone) acetate on excretion of estrogens, Pregnandiol and gonadotropins during the Menstrual cycle.
In: Human Pituitary Gonadotropin ed by A. Albert, Ch. C. Thomae, Springfield p. 222 (1961)
- 66 Marti, M., Cloor, F. u.a.
Die Hemmung der Ovulation - Physiologisch, chemische und klinische Anwendung. Therap. Umschau 21, 3 : 86 (1964)
- 67 Martius, H.
Fluchtamenorrhoe, Dtsch. Med. Wschr. 347 (1946)
- 68 Matsumoto, S.T., Ito & S. Inoue
Untersuchungen der ovulationshemmenden Wirkung von 19 - Nöresteroideen an laparatomierten Patientinnen. Geburtsh. u. Frauenheilk. 20, 250 (1960)
- 69 Mears, E. und Grant, M.C.G.
"Anovlar" as an oral contraceptive. Brit. Med. J. 5297 : 75 (1962)
- 70 Pincus, G.
The hormonal control of ovulation and early development. Postgrad. Med. 24, 654 (1958)
- 71 Rauscher, H. und H. Leeb
"Beeinflussung der Ovulation". Fortschr. Geburtsh. Gynäk. 21 : 165 (1965)
- 72 Rice-Wray, E.
Oral contraception in Latin America. Paper of the International Seminar on Physiology of Reproduction. Bombay Febr. 1963
- 73 Rice-Wray, E., M. Schulz-Contreras, I. Guerrero, A. Arana-Rosell
Long-term administration of norethindrone in fertility control. J. Amer. med. Ass. 180, 355 (1962)
- 74 Salk, J.E.

Zit. nach Nr. 127
J. Immunol. 49, 87 (1944)

- 75 Satterthwaite, A.P., C.J. Gamble
Conception control with notethynorel. J.Amer.med.Wom.
Ass. 17, 797 (1962)
- 76 Scentagothai, Flerko, Mess and Halasz
Hypothalamic Controle of the Anterior Pituitary.
Akademiai Kiado Budapest 1962
- 77 Schmidt-Elmendorff, H.
Der Einfluß von 15 mg Lynestrenol auf die FSH - LH
und Gesamtgonadotropinausscheidung im Harn während
des menstruellen Zyklus.
Geburtsh. u. Frauenheilk. 26 , 327 (1966)
- 78 Schmidt-Elmendorff, H.
Die Hormonausscheidung von FSH, Lh und gesamtgonado-
trope Aktivität bei Frauen während des normalen men-
struellen Zyklus.
Geburtsh. u. Frauenheilk. 26 , 1194 (1966)
- 79 Schmidt-Elmendorff, H. und H. Kopera
Der Einfluß von ovulationshemmenden Steroiden auf die
FSH-, LH- und Gesamtgonadotropinausscheidung bei
Frauen im geschlechtsreifen Alter. Vorgetragen auf
dem 12. Symposion der Deutschen Gesellschaft für
Endokrinologie. Wiesbaden, 23.4.1960
- 80 Steelman, S.L. and F.M. Pohley
Assay of the Follicle Stimulating Hormone, Based on
the Augmentation with human Chorionic Gonadotrophin.
Endocrinology 53, 604 (1953)
- 81 Segaloff A. und Steelman, S.L.
The human gonadotrophins. Recent Progr. Hormone Res.
15, 127 (1959)
- 82 Shearman, R.P.
The effects of the long-term use of "Ovulation inhi-
bitors" on the excretion of ovarian steroids.
Proc. 7th Conf. Int. Planned Parenthood Fed. Singa-
pore 1963
- 83 Taymor, M.L.
FSH and ICSH Exkretion in different phases of the
normal menstrual cycle. Berichte, Intern. Federatio
Gynak.u.Geburtsh. III. Weltkongress Wien 1 : 1/6 (1961)

- 84 Taymor, M.L. and P. Klibanoff
Laboratory and clinical effects of nortestosterone.
III. Ovulations - inhibiting effects of small doses of 17 α - 19 - nortestosterone acetate.
Amer.J.Obstetr.a.Gynec. 84, 11 I: 1470 (1962)
- 85 Tietze, K.
Zur Genese und Prognose der Notstandsamennorrhoe.
Zbl.Gynäk. 377 (1948)
- 86 Tocantius, A.L.S., J. De Souza Leao
Eine Methode zur Gewinnung, Reinigung und chem. Bestimmung von Chorion-Serum-Gonadotropin und das Chemische der Hypophysen-Gonadotropine, die mit dem Urin ausgeschieden werden. An.brasil.Gynec.40, 371 (1955)
- 87 Ufer, J.
Zur hormonalen Konzeptionsverhütung. Med.Klin. 59, 27 : 1089 (1964)
- 88 Vierneisel
Die Ultrafiltration zum Nachweis hypophysärer Gonadotropine aus dem Harn. Zbl.Gynäk. 1915 (1961)
- 89 Westmann, A. und D. Jakobsohn
Endokrinologische Untersuchungen an Ratten mit durchtrenntem Hypophysenstiel. Acta obstetr. et gynec. scand. 18, 99 (1938)
- 90 Wide, L.
An immunological method for the assay of HCG.
Acta endocr. Suppl. 70 (1962)
- 91 Wide L. and C. Gemzell
Immunological determination of pituitary luteinizing hormone in the urine of fertile and postmenopausal women and adult men. Acta endocr. 39, 539 (1962)

Herrn Professor Dr. W. Bickenbach danke ich zum Schluß für das Interesse, das er den Gonadotropinuntersuchungen entgegengebracht hat. Zu besonderem Dank bin ich ihm verpflichtet dafür, daß er es mir ermöglichte, die Arbeit zu Ende zu führen, indem er mir eine Assistentenstelle in seiner Klinik gab.

Herrn Professor Dr. R. Kaiser danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die zweite Korrektur der Arbeit. Besonders möchte ich Herrn Dr. Daume für die Ratschläge bei der Durchführung und Fertigstellung der Arbeit danken. Auch den medizinisch-technischen Assistentinnen des Hormonlabors der I. Universitäts-Frauenklinik danke ich für die Unterstützung bei der technischen Durchführung der Versuche.

Am 5. November 1937 wurde ich als Tochter des Unternehmers Peter Lichtner und dessen Ehefrau Amalia in Deutsch - Litta, CSR geboren.

Bis zum 6. Lebensjahr verbrachte ich meine Kindheit in meinem Geburtsort. Infolge des Krieges kamen wir 1945 nach Deutschland.

Von 1945 bis 1952 besuchte ich die Volksschule in Langen - Brütz (Mecklenburg), anschließend die "Fritz-Reiter"-Oberschule in Crivitz und erhielt im Mai 1956 das Reifezeugnis.

Im September 1956 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Humboldt-Universität zu Berlin.

Im Frühjahrssemester 1962 legte ich das medizinische Staatsexamen an der oben genannten Universität ab.

Vom September 1962 bis September 1963 arbeitete ich als Pflichtassistentin auf der internen, chirurgischen und gynäkologischen Abteilung des Krankenhauses Angermünde bei Berlin. Nach den dortigen Bestimmungen erhielt ich nach Ableistung der einjährigen Pflichtassistentenzeit die Approbation als Arzt mit Geltung ab September 1963.

Bis Mai 1964 war ich als Assistentin auf der gynäkologischen Abteilung des Krankenhauses Angermünde tätig.

Im Juni 1964 kam ich nach München.

Nach den hier geltenden Bestimmungen zur Erlangung der Approbation mußte ich noch 6 Monate als Medizinalassistentin auf einer chirurgischen oder internen Abteilung arbeiten, was ich im Krankenhaus München-Pasing tat.

Im Dezember 1964 erhielt ich die Bestallung als Arzt.

Seit Januar 1965 bin ich als Verwalterin einer wissenschaftlichen Assistentenstelle an der I. Universitäts-Frauenklinik München tätig.

